Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie
der Philipps-Universität Marburg / Lahn
Lehrstuhl I: Prof.Dr. K. Unsicker

# CYTOLOGISCHE, HISTO- UND BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AM NEBENNIERENMARK DES MEERSCHWEINCHENS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER KLEINGRANULÄREN (SGC) ZELLEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**OTTONI HABURA-FLÜH**
aus Wuppertal

Marburg 1979

Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie
der Philipps-Universität Marburg / Lahn
Lehrstuhl I: Prof.Dr. K. Unsicker

# CYTOLOGISCHE, HISTO- UND BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AM NEBENNIERENMARK DES MEERSCHWEINCHENS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER KLEINGRANULÄREN (SGC) ZELLEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

OTTONI HABURA-FLÜH
aus Wuppertal

Marburg 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 9.7.1979

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. F. NEURATH
Referent: Prof. Dr. med. K. UNSICKER
Correferent: Prof. Dr. med. R. HEENE

INHALTSVERZEICHNIS


| | | Seite |
|---|---|---|
| 1. EINLEITUNG | | 1 |
| 2. MATERIAL UND METHODEN | | 4 |
| 2.1 | Elektronenmikroskopie | 4 |
| 2.2 | Selektive Markierung adrenerger Axone | 4 |
| 2.3 | Histochemie | 5 |
| 2.3.1 | Argentaffine Reaktion | 5 |
| 2.3.2 | Fluoreszenzmikroskopische Darstellung von Katecholaminen | 5 |
| 2.4 | Immunhistochemie zur Verteilung von Aktin und Myosin | 6 |
| 2.5 | Biochemie | 6 |
| 2.6 | Statistik | 8 |
| 3. BEFUNDE | | 9 |
| 3.1 | Elektronenmikroskopie | 9 |
| 3.1.1 | Adrenalin-speichernde Zellen | 9 |
| 3.1.2 | Noradrenalin-speichernde Zellen | |
| 3.1.3 | SGC-Zellen | 9 |
| 3.1.4 | Ganglienzellen | 19 |
| 3.1.5 | Fortsätze von Ganglienzellen und SGC-Zellen | 20 |
| 3.1.6 | Vater-Pacinische Lamellenkörperchen | 26 |
| 3.2 | Katecholamin- und Immunhistochemie | 29 |
| 3.3 | Biochemie | 30 |
| 4. DISKUSSION | | 37 |
| 5. ZUSAMMENFASSUNG | | 45 |
| 6. LITERATURVERZEICHNIS | | 47 |

## 1. EINLEITUNG

Zwei verschiedene endokrine Zelltypen im Nebennierenmark (NNM) von Säugern wurden erstmals lichtmikroskopisch von Bänder (1950) und mit Hilfe der Formaldehyd - induzierten Fluoreszenz zum Nachweis von Katecholaminen (KA) von Eränkö (1955) beschrieben und den beiden NNM-Hormonen Adrenalin (A) und Noradrenalin (NA) zugeordnet. In elektronenmikroskopischen Studien (Coupland und Hopwood, 1966; Coupland, 1971) konnten nach Glutaraldehyd - Osmiumtetroxyd-Fixierung ebenfalls zwei Zelltypen identifiziert werden: NA-speichernde Zellen enthielten sehr dichte, homogene Sekretgranula, während für A-speichernde Zellen Sekretgranula mit feingranulärer Matrix als charakteristisch erkannt wurden.

Ein weiterer KA-speichernder Zelltyp, der sich von den oben genannten durch seine geringere Gesamtgröße, eine hohe Kern-Zytoplasmarelation und eine ausgeprägte Fähigkeit zur Fortsatzbildung unterscheidet und in die Literatur als SGC-Zelle (small granule containing) einging, wurde bisher nur in sympathischen Ganglien (Grillo, 1966; Williams, 1967; Elfvin, 1968; Siegrist et al., 1968; Jakobowitz, 1970; Watanabe, 1971; Yokota, 1973) beschrieben. Diese SGC-Zellen sind identisch mit einem kleinen, intensiv fluoreszierenden Zelltyp (Grillo et al., 1974), der von Eränkö und Härkonen (1963) entdeckt und als SIF (small intensly fluorescent) Zelle bezeichnet wurde. Elektronenoptisch (Watanabe, 1971; Dail et al., 1975; Elfvin et al., 1975; Lu et al., 1976), histochemisch (Santer et al., 1975) und entsprechend ihrer Reaktion auf verschiedene Pharmaka (Guanethidin, p-Chlorphenylalanin; Heym, 1975; 1976; Heym und Grube, 1975) sind mehrere Typen von SGC-Zellen unterschieden worden.

Zur Funktion der SGC-Zellen gibt es nur wenige gesicherte Befunde. Von einem SGC-Zelltyp, dessen Fortsätze efferente Synapsen an sympathischen Ganglienzellen bilden (Matthews und Raisman, 1969), wird angenommen, daß er die synaptische

Erregungsleitung vom I. auf das II. sympathische Neuron moduliert und für die inhibitorischen postsynaptischen Potentiale in sympathischen Ganglien verantwortlich ist (Libet und Owman, 1974). In einigen SGC-Zellen wurde Dopamin (DA) gefunden (Björklund et al., 1970), das möglicherweise über die Aktivierung einer DA-abhängigen Adenylcyclase (Kebabian und Greengard, 1971) eine intraganglionäre Hemmung (Libet und Tosaka, 1970) verursacht. Da das NNM seiner Herkunft nach als modifiziertes sympathisches Ganglion betrachtet werden kann, erschien es uns nicht ausgeschlossen, daß es Zellen enthält, die den SGC-Zellen in sympathischen Ganglien vergleichbar sind, zumal in der Nebenniere niederer Vertebraten eine Vielfalt chromaffiner Zellen vorkommt, die zum Teil den SGC-Zellen in sympathischen Ganglien von Säugern entsprechen (Unsicker, 1973a; 1976). Außer endokrinen Zellen wurden von Unsicker (1967) und Diner (1968) Nervenzellen im NNM beschrieben, die in ihrer Ultrastruktur sympathischen Ganglienzellen gleichen. Diese könnten der Gefäßinnervation dienen und damit Teil des efferenten Schenkels eines Regelkreises sein, dessen afferenter Schenkel von Barorezeptoren innerhalb der Nebenniere ausgeht.

Die Existenz von Barorezeptoren in der Nebenniere ist aufgrund von elektrophysiologischen Messungen an afferenten Nervenfasern aus der Nebenniere von Katze und Kaninchen postuliert worden (Niijima und Winter, 1968);das entsprechende morphologische Substrat wurde allerdings noch nicht identifiziert.

Die vorliegende Untersuchung sollte klären,

1. ob es im NNM von Säugern Zellen gibt, die den SGC-Zellen in sympathischen Ganglien entsprechen, welches KA diese Zellen speichern und welche Funktion sie möglicherweise ausüben könnten; und
2. ob es in der Nebenniere mechanorezeptive Strukturen gibt, die den von Niijima und Winter (1968) postulierten Barorezeptoren entsprechen könnten.

Als Versuchstier wurde das Meerschweinchen (Cavia porcellus L.) gewählt, dessen NNM noch nicht systematisch untersucht worden ist (Wetzstein, 1957; Gorgas, 1968). Eine genaue Kenntnis des Meerschweinchen-NNMs war auch erforderlich, da es aufgrund seines besonders hohen Anteils von A-Zellen für Untersuchungen zur Differenzierung des NNMs in Transplantaten und Gewebekulturen geeignet erschien (vgl. Unsicker et al., 1977a;1978a; Tschechne, B., 1978; Tschechne, D., 1978)

## 2. MATERIAL UND METHODEN

Die Nebennieren von neugeborenen und adulten Meerschweinchen (Cavia procellus L.) einer Koloniezucht wurden elektronenmikroskopisch, histochemisch und biochemisch untersucht.

### 2.1 Elektronenmikroskopie

Die Tiere wurden mit Äther narkotisiert und entweder vom linken Ventrikel aus oder durch die Aorta descendens mit einem 3,5 %igen Glutaraldehyd-Phosphatpuffergemisch (0,1 M, pH 7,4, 4-6° C) ca. 15 Min. lang perfundiert. Etwa 1 mm dicke Scheiben der Organe wurden für weitere 2 Std. in der Perfusionslösung belassen, 2 Std. lang in wiederholt gewechseltem 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,4) gespült und 2 Std. in 2 %iger wässriger $OsO_4$-Lösung bei Zimmertemperatur nachfixiert. Anschließend erfolgte eine Stückkontrastierung in gesättigter, wässriger Uranyl-acetatlösung sowie die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe und Propylenoxyd. Die Gewebsstücke wurden in Araldit eingebettet.
Semi- und Ultradünnschnitte wurden auf einem Reichert-Sitte Ultramikrotom Om $U_2$ geschnitten.
Ultradünnschnitte wurden jeweils 5 Min. mit gesättigter methanolischer Uranyl-acetatlösung und mit alkalischer Bleicitratlösung (pH 9) kontrastiert. Einige Schnitte wurden nur mit Bleicitrat kontrastiert, um Na-enthaltende Granula hervorzuheben. Die Schnitte wurden in einem Zeiss EM 9A und einem Siemens 101 Elektronenmikroskop untersucht.
Zur lichtmikroskopischen Kontrolle wurden Semidünnschnitte von 1 µm Dicke verwendet und mit einer wässrigen Lösung von 1 % Toluidinblau, 1 % Borax und 1 % Methylenblau gefärbt.

### 2.2 Selektive Markierung adrenerger Axone (Tranzer und Thoenen, 1967; Thoenen, 1972)

#### 2.2.1 Markierung mit 6-Hydroxydopamin (6-OHDA)

Je 2 neugeborene und 2 adulte Tiere wurden mit 6-OHDA-

hydrochlorid (Labkemi, Göteborg) in 0,2 %iger Ascorbinsäurelösung in der nachfolgend beschriebenen Weise behandelt:
Neugeborene Tiere: 3 Injektionen von 100 mg/kg i.p., im Abstand von 24 Std.; die letzte Injektion erfolgte 1-2 Std. vor der Perfusion.
Adulte Tiere: 4 Injektionen von 100 mg/kg i.p., jeweils am 8., 7., vorletzten und letzten Tag vor der Perfusion; die letzte Injektion erfolgte 12 Std. vor der Perfusion.

### 2.2.2 Markierung mit 5-OHDA

3 adulte Tiere erhielten 3 Injektionen von 200 mg/kg 5-OHDA-hydrobromid in 0,2 %iger Ascorbinsäurelösung i.p., im Abstand von je 12 Std.. Die letzte Injektion erfolgte 1-2 Std. vor der Perfusion.

## 2.3 Histochemie

### 2.3.1 Argentaffine Reaktion

Zum Nachweis von NA enthaltenden Zellen wurde die argentaffine Reaktion (Gorgas und Böck, 1976a) an perfusionsfixierten, osmierten und in Araldit eingebetteten Semidünnschnitten durchgeführt. Hierzu wurde ammoniakalisches Silbernitrat nach Singh (1964) verwendet, das mit dem unlöslichen NA-Glutaraldehydpräzipitat ein braun-schwarzes Reaktionsprodukt bildet, während DA und A schon bei der Fixierung zum größten Teil ausgewaschen werden und deshalb nicht angefärbt werden können.

### 2.3.2 Fluoreszenzmikroskopische Darstellung von Katecholaminen (Falck et al., 1962; Björklund et al., 1972)

Frisch entnommene Nebennieren wurden gefriergetrocknet und 1 Std. lang bei 80° C mit Paraformaldehyddampf, der vorher mit 70 % Luftfeuchtigkeit äquilibriert worden war, inkubiert.

Nach Vakuumeinbettung in Paraffin wurden 7 µm dicke Schnitte hergestellt und mit einem Zeiss Fluoreszenzmikroskop unter Verwendung der Filter BG 3, BG 6 (Schott) sowie Zeiss 47 und 50 untersucht.

Von 4 Nebennieren wurden 20 µm dicke Cryostatschnitte angefertigt und diese zur Demonstration der biogenen Amine 3 sec. bei Zimmertemperatur in einem 2 %igen Glyoxylsäure-0,1 M Phosphatpuffergemisch (pH 7,4) inkubiert und 5 Min. bei 80°C erhitzt. Anschließend wurden die Schnitte mit Paraffinöl eingedeckelt (vgl. Lindvall und Björklund, 1974; modifiziert nach de la Torre und Surgeon, 1976).

## 2.4 Immunhistochemie

Zum Nachweis von Aktin und Myosin wurden 4 µm dicke native Cryostatschnitte 1 - 2 Std. luftgetrocknet und bei Zimmertemperatur 30 Min. mit spezifischen, $\gamma$-Globulin-angereicherten Antikörpern (1-2 mg/ml) von Kaninchen gegen Aktin bzw. Myosin aus Hühnermuskelmagen (Gröschel-Stewart et al., 1976; 1977) und weitere 30 Min. mit fluoresceinmarkiertem (FITC) Immunglobulin (Ziege gegen Kaninchen) inkubiert. Als Kontrollen dienten Schnitte, die mit Nicht-Immunseren (Kaninchen), Antigen-adsorbierten Antikörpern oder FITC allein inkubiert worden waren. Die in einem Glycerol-0,1 M Glycin-Puffer-Gemisch (pH 8,6) eingebetteten Schnitte wurden mit einem Zeiss Fluoreszenzmikroskop untersucht.

## 2.5 Biochemie

Bestimmungen von A, NA und Phenyläthanolamin N-methyltransferase (PNMT) wurden an linken und rechten Nebennieren von neugeborenen und adulten Meerschweinchen durchgeführt. Die Nebennieren wurden in 6 ml 5mM Tris-HCl Puffer (pH 7,0), der 0,2 % Triton X-100 und 0,2 % Rinderserum-Albumin enthielt, homogenisiert. Zur Beurteilung der PNMT-Aktivität und der KA wurde das Homogenat in zwei Teile geteilt.

Zur PNMT-Aktivitätsmessung wurde die leicht modifizierte Methode nach Axelrod (1962) benutzt. Das Homogenat wurde 30 Min. bei 20.000 U/min in einer Sorvall Superspeed RC2-B Zentrifuge zentrifugiert. 20 µl der überstehenden Flüssigkeit wurden für 5 Min. bei 37° C in einem Gesamtvolumen von 200 µl inkubiert, das 80 µl 5mM Tris-HCl Puffer (pH 7,0), 50 µl 1N Tris-HCl Puffer (pH 8,6), 1,8 mM Phenyläthanolamin (gelöst in 25 µl 0,001 N HCl), 20 µl 0,001 N HCl und 5 µl S-Adenosylmethionin-Lösung (total 0,7 nmol, 17 % $^{14}$C-markiert, spezifische Aktivität 56,7 mCi nmol$^{-1}$) enthielt. Während der Inkubationsdauer war die anfängliche Rate der Enzymaktivität konstant. Die Reaktion wurde durch Hinzugabe von 500 µl Borat-Puffer (pH 10,0) gestoppt. Die Leerwerte wurden durch die Hinzufügung von S-Adenosyl-Methionin und Borat-Puffer hergestellt. Das $^{14}$C-markierte N-methylierte Reaktionsprodukt wurde in 6 µl 97 % Toluen-3 % Isoamylalkohol (v/v) extrahiert, das der Reaktionsmischung beigegeben wurde. Das Röhrchen wurde 5 Min. geschüttelt und zentrifugiert. Ein Rest von 4 ml des organischen Lösungsmittels wurde für die Flüssigscintillations-Zählung (Packard Modell 3380) nach Zugabe von 10 ml Scintillations-Flüssigkeit benutzt. NA und A wurden aus 2 ml des Homogenates durch Hinzufügen von 2 ml 10 % Trichloracetatsäure für 20 Min. bei 4° C extrahiert. Nach Zentrifugierung mit 5000 U/Min. bei 4° C für 10 Min. wurde das Sediment mit 6 ml 5 % Trichloracetatsäure extrahiert und wie oben beschrieben zentrifugiert.
Die Oberstände wurden abgehoben und die KA zu gleichen Teilen an Aluminium adsorbiert und eluiert. NA und A wurden durch Differential-Fluorometrie gemessen (Unsicker et al., 1977b).
Benutzte Pharmaka: Phenyläthanolamin (ICN), S - Adenosyl-Methionin (Boehringer-Mannheim), $^{14}$C-S-Adenosyl-Methionin (NEN, Dreieichenhain).

## 2.6 Statistik

Zur Erstellung der Histiogramme (Abb. 24 ) wurden die Durchmesser der "cores" der Speichervesikel in A- und SGC-Zellen im NNM von neugeborenen und adulten Meerschweinchen anhand von 18.000 fachen elektronenoptischen Vergrößerungen mit Hilfe des Zeiss TGZ bestimmt. In jeder Gruppe wurden mindestens 2.000 Granula gemessen. Die biochemischen Ergebnisse wurden durch ein gebräuchliches Messverfahren (T-Test) geprüft und statistisch gesichert. Soweit nicht anders vermerkt, wurde für alle angeführten Meßwerte eine Irrtumswahrscheinlichkeit innerhalb von 5 % ermittelt.

## 3. BEFUNDE

### 3.1 Elektronenmikroskopie

#### 3.1.1 Adrenalin speichernde Zellen (A-Zellen)

A-Zellen waren der dominierende Zelltyp im NNM neugeborener und adulter Meerschweinchen. Sie waren elektronenoptisch gekennzeichnet durch Granulärvesikel mit einem Kern schwacher bis mittlerer Elektronendichte und einem Durchmesser von 80-280 nm. Der Inhalt der Granulärvesikel wies eine granuläre Substruktur auf (Abb. 1).
Im übrigen glich das ultrastrukturelle Bild der A-Zellen von Meerschweinchen dem anderer Säuger (ausführliche Zusammenfassungen bei Coupland, 1972; Grynszpan-Winograd, 1975).

#### 3.1.2 Noradrenalin speichernde Zellen (NA-Zellen)

NA-Zellen (Abb. 2) besaßen Speichervesikel mit elektronenoptisch sehr dichten, häufig exzentrisch gelegenen Kernen (Durchmesser 60-290 nm). Sie waren außerordentlich selten und machten nach unserer Schätzung weniger als 1 % der chromaffinen Zellen aus. Sie konnten daher kaum das gesamte NA des NNMs, das mit 10-15 % der Gesamt-KA gemessen wurde (s.u.), enthalten.

#### 3.1.3 SGC-Zellen

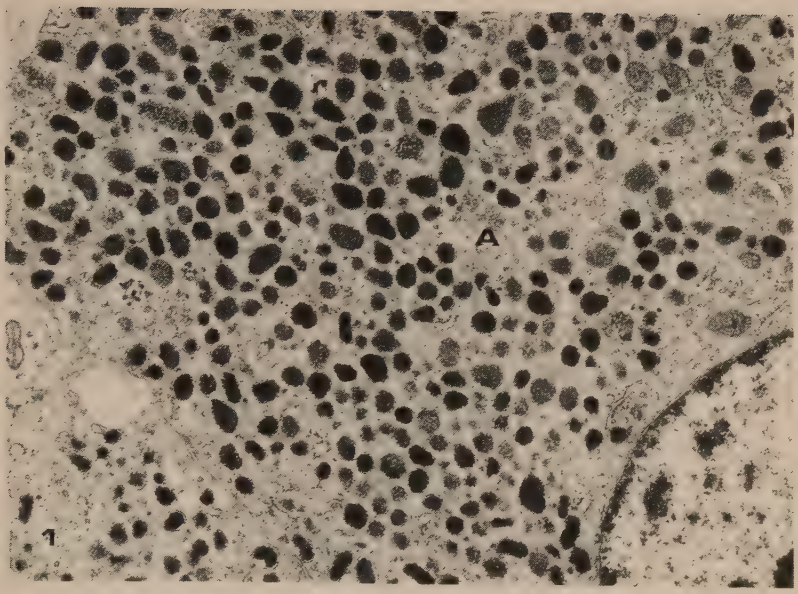
Von den oben beschriebenen A- und NA-Zellen ließen sich Zellen abgrenzen, die durch geringere Größe, eine Verschiebung der Kern-Zytoplasma-Relation zugunsten des Kerns, wenige kleinere Speichergranula und eine ausgeprägte Fähigkeit, lange Fortsätze zu bilden, charakterisiert waren. Diese Zellen entsprachen den von vielen Autoren (s. Einleitung) in sympathischen Ganglien von Säugern gefundenen SGC-Zellen.
Die direkte Zuordnung aufeinanderfolgender, mit ammoniakalischer Silbernitratlösung behandelter Semidünnschnitte und

elektronenmikroskopischer Dünnschnitte ermöglichte es, mindestens zwei verschiedene SGC-Zelltypen zu unterscheiden:

a) NA-speichernde SGC-Zellen, deren Zytoplasma sich nach Silbernitratbehandlung tief braun bis schwarz färbte und fein gekörnt erschien. Elektronenoptisch waren diese Zellen durch sehr dichte, häufig exzentrisch im Vesikel liegende Speichergranula mit einem Durchmesser von 40-160 nm gekennzeichnet (Abb.3&4).

b) NA-negative, mit Silbernitrat nicht reagierende SGC-Zellen, deren Zytoplasma sich wie das der A-Zellen hellgelb färbte. Im elektronenoptischen Bild enthielten diese SGC-Zellen schwach bis mittel elektronendichte Granula, die der Vesikelmembran immer dicht anlagen und deren Durchmesser zwischen 40 und 150 nm lagen (Abb.5 & 6).

Neben den oben beschriebenen Granulärvesikeln kamen in SGC-Zellen leere kleine (40-70 nm) und seltener ebenso große, mit dichtem Inhalt gefüllte Vesikel vor, ähnlich denen in adrenergen Varikositäten (vgl. Fillenz, 1971).
Eine Polarisierung der Zellen im Sinne einer basalständigen Golgiregion war nicht zu erkennen, doch waren Bereiche, in denen rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER) und Golgi-Profile überwogen, fast frei von Granulärvesikeln. Ausgedehnte Zellbezirke besaßen nur Mikrotubuli und ER-Profile. In einigen Zellen fanden sich in Kernnähe dicht angeordnete Filamentbündel (Abb. 7 ), die bereits von Gorgas (1968) beim Haus- und Wildmeerschweinchen beschrieben wurden. Exozytoseprofile beobachteten wir nicht, doch waren häufig einige Vesikel der Zellmembran dicht angelagert.
Die Gabe von 5- und 6-OHDA bewirkte keine ultramorphologischen Veränderungen in den Somata von SGC-Zellen. SGC-Zellen lagen gelegentlich einzeln, meist aber in kleinen Gruppen, die bis zu 6 Zellen umfaßten und die, wie die A-Zellen, gefensterten Kapillaren eng benachbart waren. Meist besaßen sie eine lückenhafte Hülle aus Schwannzellen, doch fand man als Begrenzung gegenüber Kapillaren und größeren Gefäßen oft auch nur eine Basallamina. Auch zwischen benachbarten SGC-


A
1

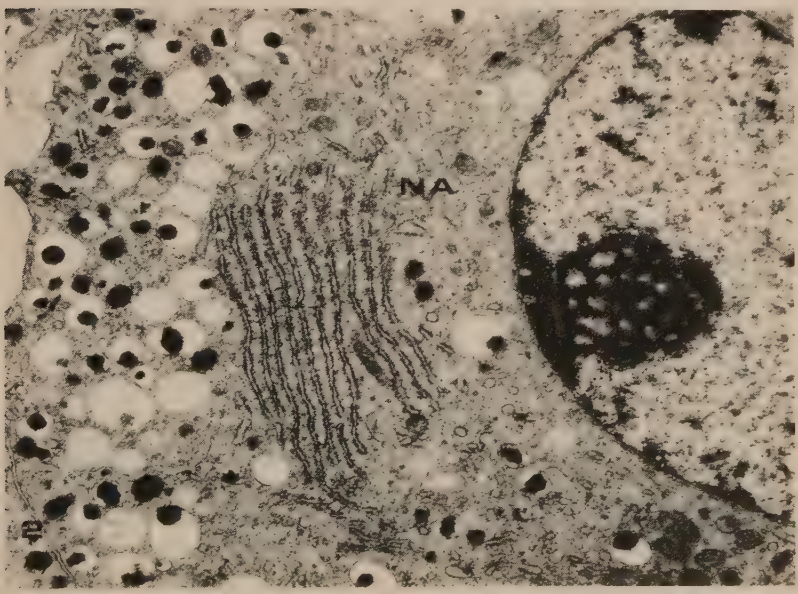
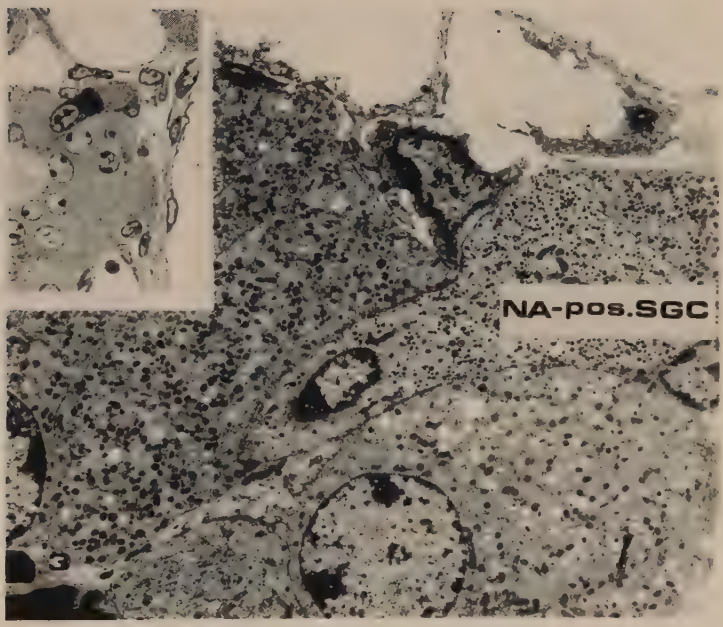

NA
B

Abb. 1: "Normale" Adrenalin speichernde Zelle (A). Die chromaffinen Granula sind gleichmäßig im Zytoplasma verteilt. Sie zeigen bei geringer bis mittlerer Elektronendichte eine granuläre Substruktur und füllen den Vesikel vollständig aus. Die überwiegende Mehrzahl aller chromaffinen Zellen im Nebennierenmark des Meerschweinchens gehört diesem Zelltyp an. x 18ooo

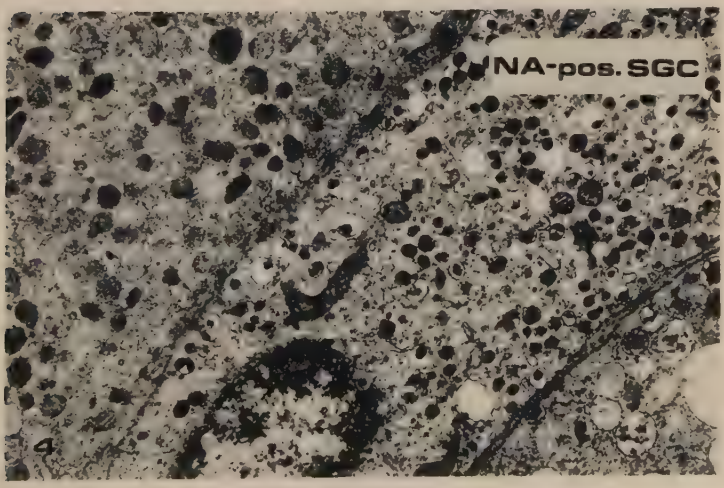
Abb. 2: "Normale" Noradrenalin speichernde Zelle (NA). Charakteristisch für die Granulärvesikel dieses Zelltyps ist die häufig exzentrische Lage des sehr elektronendichten Inhalts in einer relativ weiten Vesikelmembran.
NA-Zellen dieses Typs sind im Nebennierenmark des Meerschweinchens sehr selten. Ihr Anteil an den chromaffinen Zellen beträgt etwa 1 %. x 18ooo

Abb. 3: NA-positive SGC-Zelle.
Mit Hilfe einer modifizierten argentaffinen Reaktion (Inset) läßt sich in Zellen dieses Typs NA nachweisen. Im Vergleich zu "normalen" A-Zellen ist das Kern-Zytoplasma-Verhältnis zugunsten des Kerns verschoben. x 5.4oo; Inset x 25o

Abb. 4: Dieselbe Zelle wie in Abb. 3 bei stärkerer Vergrößerung.Die Granula zeigen hohe Elektronendichte. Neben Vesikeln mit exzentrisch gelegenem Granulum und weitem Halo ist ein Teil der Granula eng von der Vesikelmembran umgeben. Der Durchmesser der Granula schwankt zwischen etwa 40 und 160 nm, wobei die Schwankungsbreiten innerhalb einunderselben Zelle oft erheblich geringer sind. x 18ooo




3




4

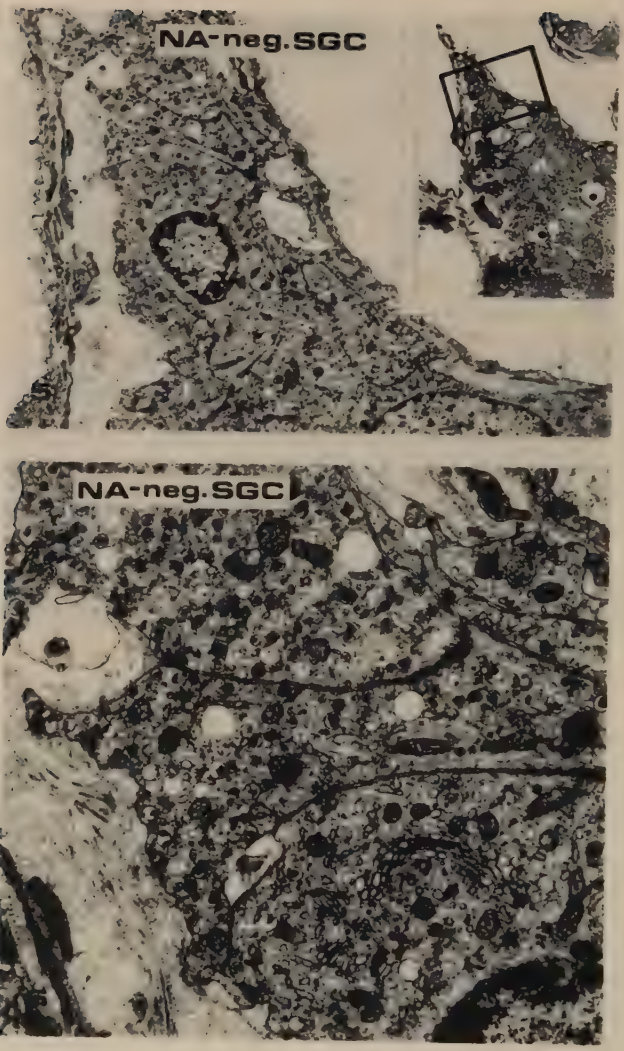



Abb. 5 und 6: NA-negative SGC-Zelle.
In der Zelle ist (vgl. Abb. 3) kein NA nachweisbar. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt Granulärvesikel mit überwiegend gering elektronendichtem Inhalt. Abb. 5 x 5400, Inset x 250; Abb. 6 x 18000

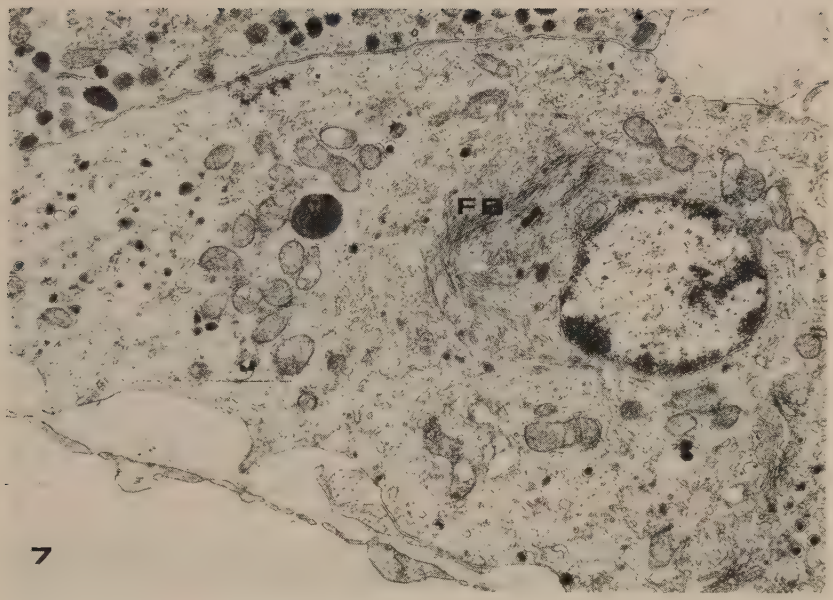
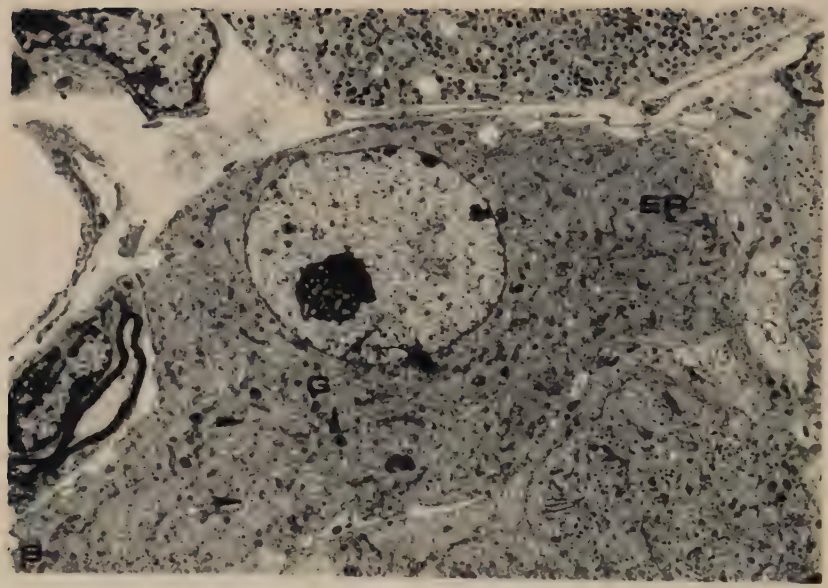



Abb. 7: NA-SGC-Zelle mit dicht um den Kern angeordneten Filamentbündeln (FB). x 18000



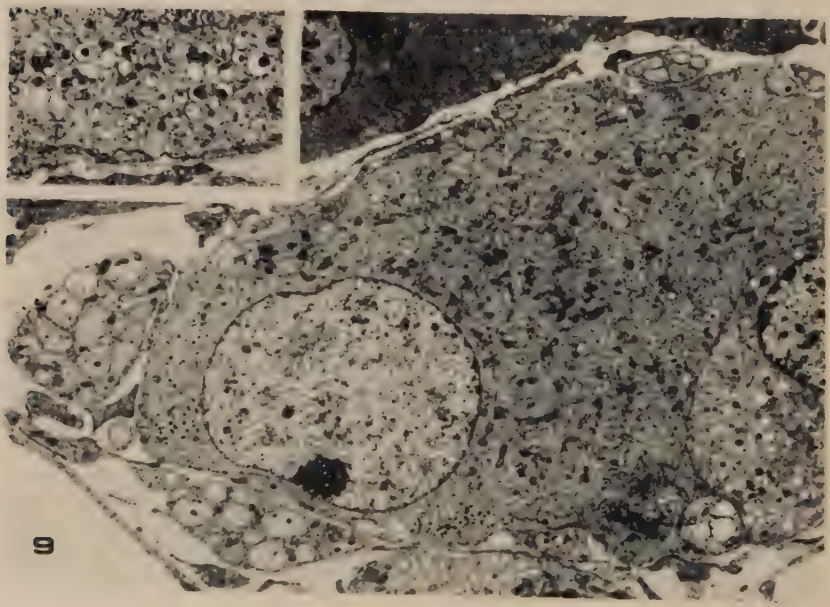


Abb. 8: Perikaryon einer großen Nervenzelle (Typ I) im Nebennierenmark vom Meerschweinchen.
Diese Zellen liegen entweder einzeln oder in größeren Ansammlungen im Mark. Sie besitzen wenige Granulärvesikel (Pfeile) mit einem Inhalt mittlerer Elektronendichte und einem Durchmesser von 70-110 nm. Golgifeld (G), rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER), Adrenalin produzierende Zelle (A). x 5400

Abb. 9: Nervenzelle mit wenigen kleinen Granula, die sehr wahrscheinlich Noradrenalin (NA) enthalten (Typ II). Zellgröße und Verteilung der Golgifelder und Nissl-Substanz sind noch typisch für große Ganglienzellen vom Typ I, während der relative Reichtum an elektronendichten Granula (Pfeile und Inset) auf einen "chromaffinen" Zelltyp hindeutet. x 5400

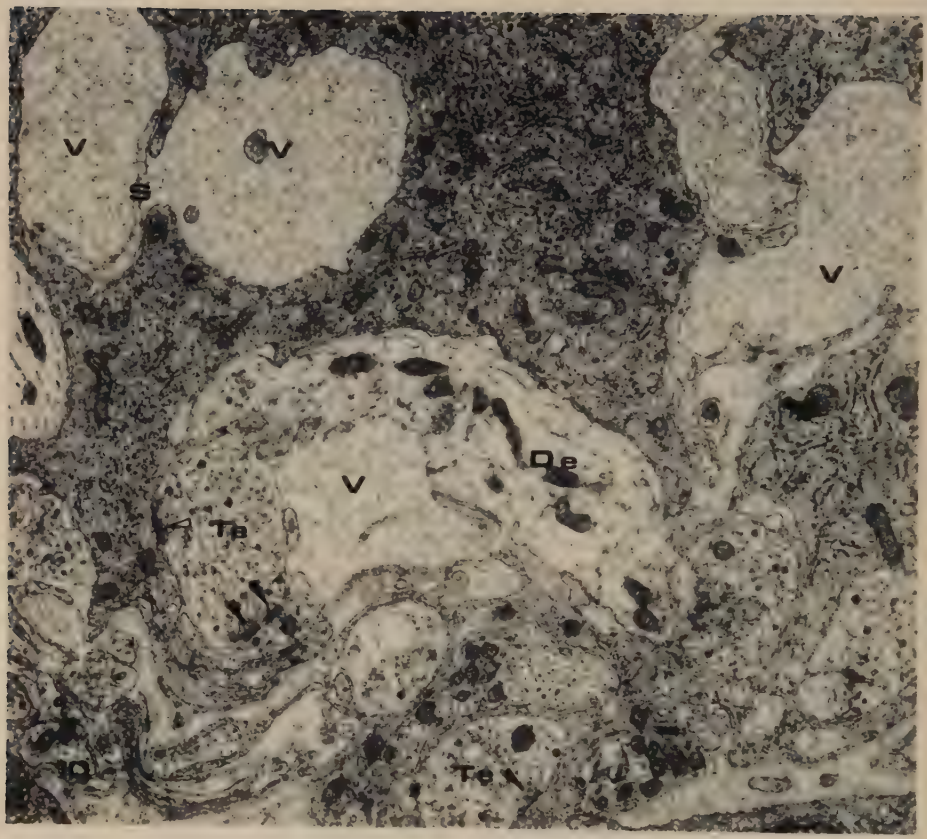



Abb.1o: Ganglienzelle vom Typ I mit mehreren Vakuolen (V), die mit einem flockulären Inhalt geringer Elektronendichte gefüllt sind. Die Vakuolen enthalten ferner Ausläufer von Schwannzellen (S), terminale Axone (Te) mit Synapsen (Pfeile) und Dendriten (De). x 18ooo

Zellen und SGC- und A-Zellen konnte die Schwannzellhülle fehlen. An solchen Stellen waren oftmals ausgedehnte Desmosomen oder Verzahnungen von organellenfreien Zytoplasmafortsätzen zu beobachten.
Während man an A-Zellen reichlich typische cholinerge Synapsen fand, waren an SGC-Zellen cholinerge synaptische Endigungen mit prä- und postsynaptischen Membranspezialisierungen extrem selten.

### 3.1.4 Ganglienzellen

Das NNM vom Meerschweinchen ist im Vergleich zum NNM anderer Säuger besonders reich an Ganglienzellen, die wir aufgrund der elektronenmikroskopischen Ergebnisse in zwei Gruppen einteilen konnten.
Ganglienzellen vom Typ I (Abb. 8 ) kamen einzeln und in größeren Gruppen vor. Ihr Durchmesser betrug 30-40 µm. Sie waren multipolar und besaßen einen ovalen, sehr hellen Kern, der nur wenig aggregiertes Chromatin und bis zu zwei prominente Nukleolen enthielt. Im Perikaryon fielen ausgedehnte ER-Bezirke und Golgi-Regionen auf, in deren Nähe vereinzelt Vesikel mit homogenem Kern von mittlerer Elektronendichte lagen (Durchmesser 80-120 nm). Einige Ganglienzellen bildeten Vakuolen (Abb. 10 ), die ein feingranuläres, elektronenoptisch helles Material enthielten. Die Vakuolen waren vom Plasmalemm einer oder mehrerer Ganglienzellen umgeben, häufig auch mit Beteiligung von Schwannzellen, welche Axone an die Ganglienzellen heranführten (Abb. 10 ).
Die Ganglienzellen erhielten sowohl axo-somatische als auch axo-dendritische Synapsen. Die präsynaptischen Endigungen enthielten neben kleinen hellen Vesikeln (Durchmesser ca. 50 nm) auch größere Granulärvesikel (Durchmesser 80-120 nm), zeigten typische präsynaptische Membranspezialisierungen (Gray und Guillery, 1966) und nahmen kein 5-OHDA auf. Sie sind daher mit großer Wahrscheinlichkeit cholinerg. Häufig wiesen diese Axonendigungen in einem Querschnitt mehrere (bis zu drei) synaptische Membranspezialisierungen auf.

Der Typ II (Abb.9 ) der Ganglienzellen ist nicht als einheitliche Zellform aufzufassen, vielmehr handelt es sich nach unserer Auffassung um Zellen, die anscheinend Vorläufer von SGC-Zellen sind. Die Zellen waren kleiner als Ganglienzellen vom Typ I und enthielten unterschiedliche Mengen von Granulärvesikeln, die in Größe und Dichte denen in SGC-Zellen entsprachen. Die Schwannzellhülle war meist an der Grenze zu Kapillaren unvollständig.

### 3.1.5 Fortsätze von Ganglienzellen und SGC-Zellen

Fortsätze von Ganglienzellen und SGC-Zellen bildeten in ihrem Verlauf mit Vesikeln gefüllte Varikositäten, die mit solchen Abschnitten alternierten, in denen parallel gerichtete Tubuli dominierten. Beiden Fortsatztypen gemeinsam waren Aggregate kleiner Vesikel (40-70 nm Durchmesser), die zum Teil einen stark elektronendichten Kern enthielten.

Fortsätze von Ganglienzellen enthielten in ihren Varikositäten außer kleinen Vesikeln einzelne Granulärvesikel mit mitteldichtem, homogenen Inhalt von 80-120 nm Durchmesser, wie sie auch in den Somata vorkamen. Sie liefen, eingehüllt in Schwannzellen, einzeln oder in Nervenfaserbündeln zusammen mit Fortsätzen von SGC-Zellen. Ihre Varikositäten waren meist schwannzellfrei und wurden an folgenden Stellen gefunden:

1) entlang von Blutgefäßen in Mark und Rinde in enger Annäherung (bis zu 50 nm) an glatte Muskelzellen, glatten Muskelzellen ähnliche Zellen (Unsicker und Gröschel-Stewart, 1978) und Endothelzellen (Abb.12 ).

2) seltener an corticosteroid-produzierenden Zellen der Zona fasciculata und Zona reticularis der Nebennierenrinde (Abb.13 ).

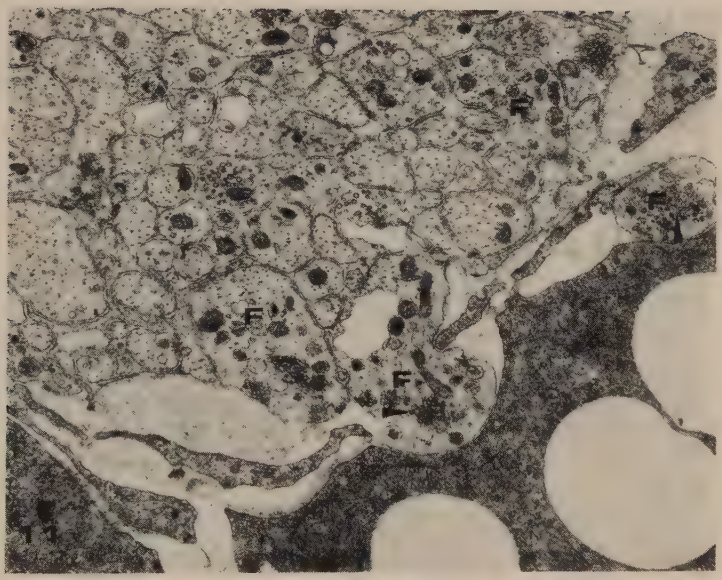



Abb.11: Fortsätze (F) von SGC-NA-negativen Zellen mit großen dichtkernigen und kleinen, meist hellen Vesikeln (Pfeile). Zwei Fortsätze stehen im Kontakt mit einer endokrinen Zelle der Zona fasciculata (Pfeilköpfe). x 18ooo

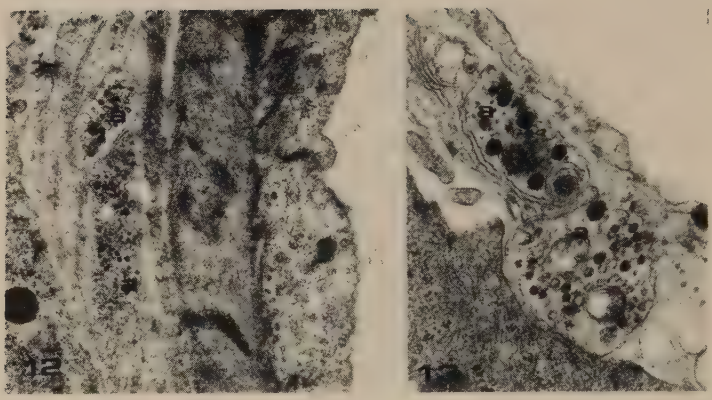
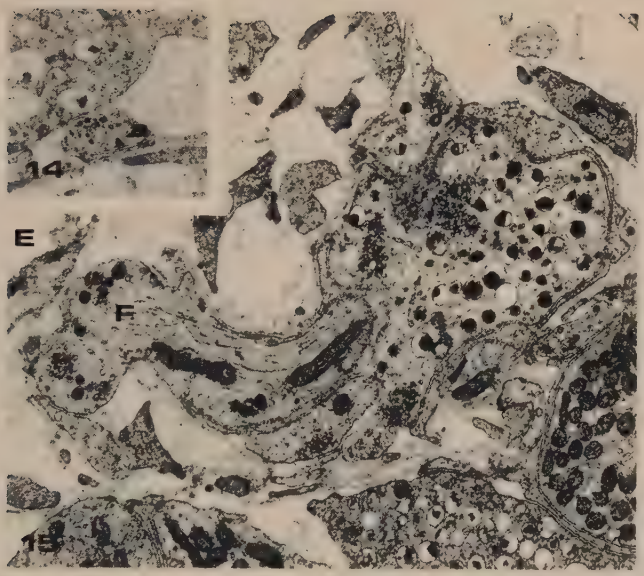


Abb. 12: Adrenerge Axone (a) ohne Schwannzellhülle in engem Kontakt mit einer Arteriole in der Nebennierenrinde. Die Speichervesikel zeigen nach 5-OHDA-Behandlung die bekannten dunklen Einschlüsse. Wahrscheinlich handelt es sich um Fortsätze von Ganglienzellen, da die für SGC-Zellen typischen großen Granulärvesikel fehlen. x 18ooo

Abb. 13: Adrenerge Axone (a) nach 5-OHDA-Aufnahme in engem Kontakt mit einer endokrinen Zelle der Zona fasciculata und dem Kapillarendothel. x 3oooo



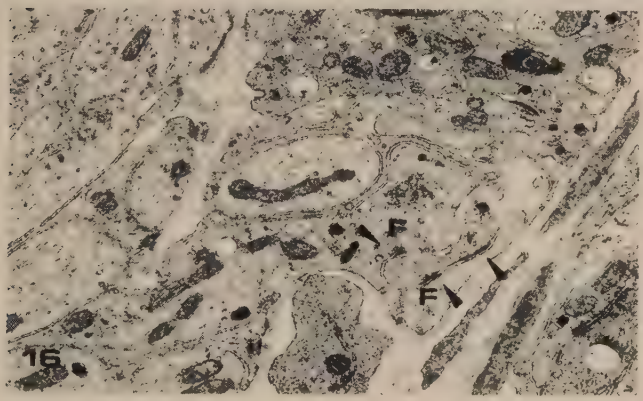




Abb. 14: Adrenerge Varikosität (a) in engem Kontakt mit einer A-Zelle. x 18ooo

Abb. 15: Fortsatz (F) einer SGC-NA-Zelle, der, ohne von einer Schwannzellhülle umgeben zu sein, an eine Kapillare (E) im Mark herantritt. x 18ooo

Abb. 16: Fortsatz (F) einer SGC-NA-Zelle, der synapsenähnliche Kontakte mit anderen Zellfortsätzen (Pfeile) (Dendriten von adrenomedullären Nervenzellen?) aufweist. x 18ooo

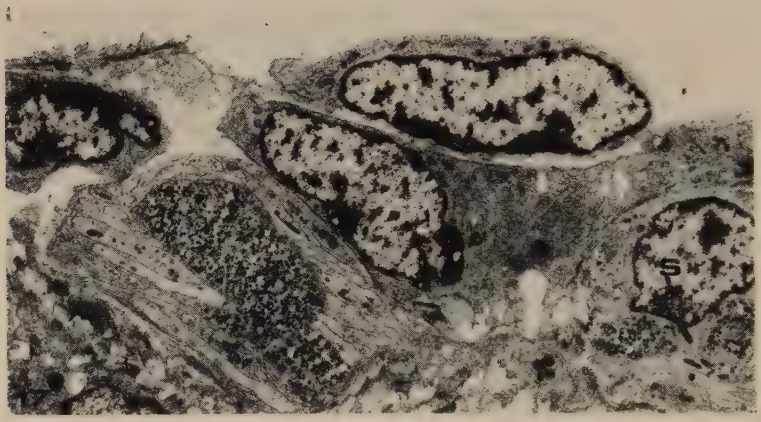



Abb. 17: Fortsätze von SGC-Zellen dicht unter der Nebennierenkapsel. Schwannzelle (S). x 5400

3) sehr selten fand man adrenerge Varikositäten in engem Kontakt mit A-Zellen (Abb.14).

Die meisten der kleinen Vesikel der Ganglienzellvarikositäten enthielten nach 5-OHDA-Applikation einen dichten Kern. Nach 6-OHDA Gabe zeigten die Ganglienzellaxone degenerative Veränderungen wie Anschwellen der Mitochondrien und der Axone, Aggregation der Vesikel und Auftreten von "dense bodies" und Myelin-ähnlichen Lamellen.
In SGC-Zellfortsätzen kamen neben den Aggregaten von kleinen Vesikeln die für die Somata typischen größeren Granulärvesikel vor. Die Fortsätze lagen selten einzeln, meist im Verband mit anderen Fortsätzen und Axonen in einer Satelitenzellhülle, die in der Nähe von Sinusoiden in Mark und Rinde häufig fehlte. Dicht unter der Nebennierenkapsel wurden große Fortsatzquerschnitte in der Nähe von Arteriolen gefunden (Abb. 15 & 17).
Nicht selten lagen außerdem schwannzellfreie Varikositäten in engem Kontakt mit Corticosteroid-produzierenden Zellen der Zona fasciculata und der Zona reticularis. Sie näherten sich bis auf 20 nm deren Zellmembranen, wobei die Basallamina fehlte. Synaptische Membranspezialisierungen fehlten an solchen Stellen (Abb.11).
Einige SGC-Zellfortsätze bildeten synaptische Strukturen an Profilen, die wir aufgrund ihrer Ultrastruktur als Dendriten von Ganglienzellen interpretieren. Diese Kontakte zeigten die typischen prä- und postsynaptischen Membranspezialisierungen mit Ansammlung der für SGC-Zellen charakteristischen Granulärvesikel auf der präsynaptischen Seite (Abb.16).
Nach Gabe von 5-OHDA wiesen die Fortsätze von SGC-Zellen im Gegensatz zu den Varikositäten der Ganglienzellfortsätze nur eine sehr geringe Einlagerung elektronendichten Materials in die kleinen Vesikel auf. In einigen Varikositäten zeigte sich nach 5-OHDA-Behandlung auch eine Veränderung an den großen Granulärvesikeln im Sinne vermehrter Elektronendichte und geringer elektronenoptischer Aufhellung im Zentrum.
6-OHDA bewirkte keine Veränderungen der SGC-Zellfortsätze.

In wenigen Fällen beobachteten wir auch A-Zellen mit Ausläufern, die aber offenbar nur sehr kurz waren, da sie außerhalb des Marks nicht gefunden wurden. Neben den spezifischen Granula von 80-280 nm Durchmesser enthielten auch diese Fortsätze Aggregate von kleinen (40-70 nm) Vesikeln.

### 3.1.6 Vater-Pacinische Lamellenkörperchen

In Semidünnschnitten fanden wir, im lockeren Bindegewebe an der Mark-Rindengrenze, in der Nähe von großen Sinusoiden, regelmäßig zwiebelförmige Körperchen, die einzeln oder in Gruppen bis zu vier pro Schnittebene angeordnet waren (Abb.18 ). Sie besaßen folgende ultramorphologischen Charakteristika: Ein zentral gelegenes Axon war von konzentrisch angeordneten Zytoplasmalamellen umgeben. Eine Kapsel, die als charakteristisch für Pacini-Körperchen gilt und als Fortsetzung der Perineuralscheide angesehen wird,fehlte hier. Auch die in der Nähe der Lamellenkörperchen gelegenen myelinisierten Nervenfasern besaßen keine ausgeprägte Perineuralscheide.

Das Axon innerhalb der Lamellenkörperchen (Durchmesser 2-4,5 µm) enthielt vorwiegend peripher liegende Ansammlungen von Mitochondrien, während im Zentrum Neurofilamente überwogen. Hauptsächlich peripher lagen auch einige kleine Vesikel (60 nm) und Mikrotubuli (Abb.20 ).
Das Axon war von zwei modifizierten Schwannzellen umgeben, deren jeweils 10-25 Zytoplasmalamellen sich gegenüberstanden. An den Zellen fielen große Mengen von Plasmalemmvesikeln auf, von denen einige Material mittlerer Dichte enthielten. Auch das Zytoplasma enthielt Vesikel gleicher Größe von mittlerer bis hoher Elektronendichte, Filamente, Tubuli und freie Ribosomen, während man Mitochondrien und rauhes ER vorwiegend in den äußersten Lamellen fand. Jeweils eine Lamelle auf jeder der sich gegenüberliegenden Hälften des Körperchens war besonders breit und besaß, im Gegensatz zu den übrigen Lamellen, dunkles Zytoplasma, in

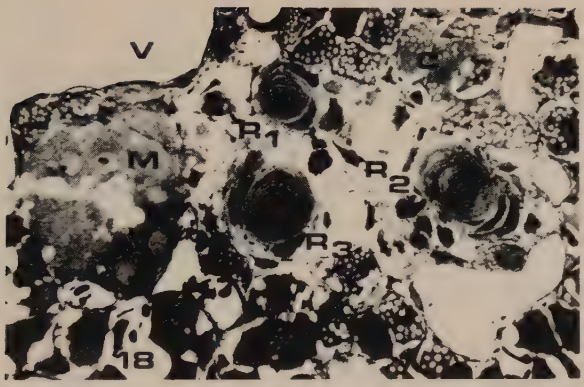



Abb. 18: 3 lamelläre Rezeptororgane ($R_{1-3}$) an der Mark-Rindengrenze. Cortex (C)- und Markzellen (M); weitlumiges venöses Blutgefäß (V). x 56o

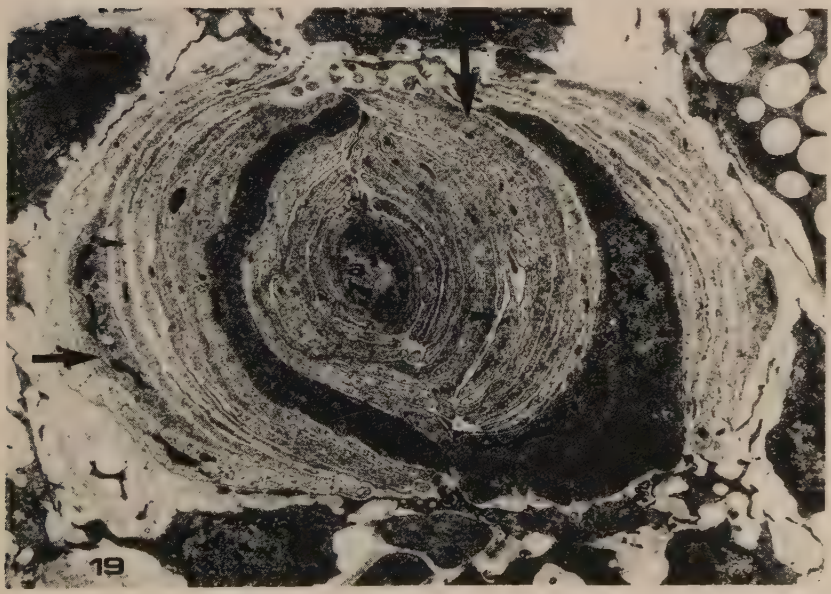



Abb. 19: Lamelläres Rezeptororgan. Ein zentrales Axon (a) mit dunklen Mitochondrien und Neurofilamenten ist von konzentrisch angeordneten zytoplasmatischen Lamellen (Pfeile) und interzellulären Spalten (Pfeilköpfe) umgeben. Zwei dunklere Lamellen, von denen eine den Kern (K) und eine Golgiregion (G) enthält, sind besonders reich an Zytoplasma. x 453o

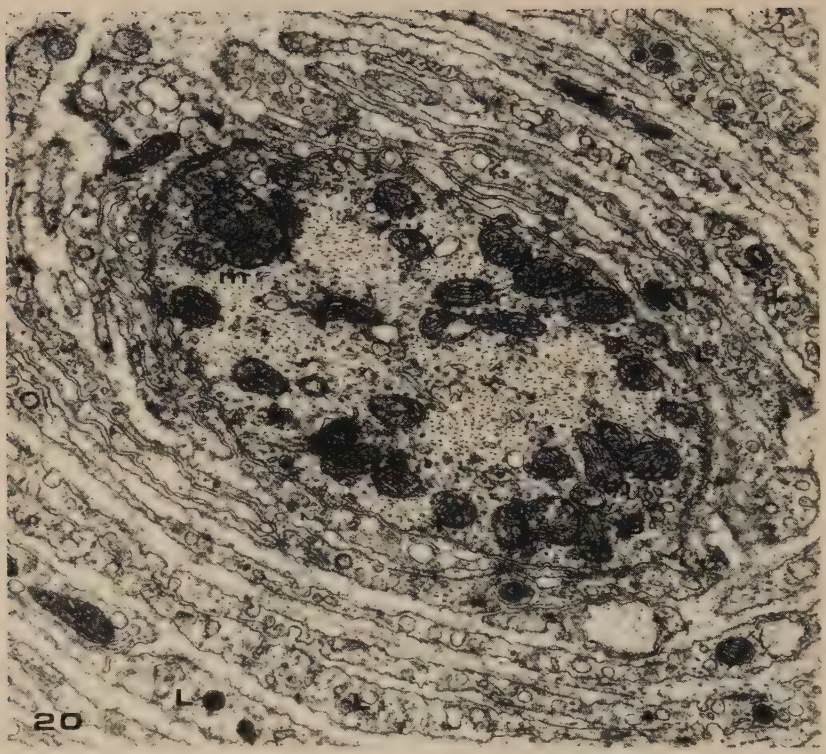



Abb. 20: Zentrales Axon des Rezeptororgans mit Mitochondrien (m), Profilen von glattem ER (g), Mikrotubuli und intermediären Filamenten. Die Lamellen der modifizierten Schwannzellen (L) enthalten zahlreiche Plasmalemmvesikel und Granulärvesikel. x 30000

dem der Kern, Golgi-Zone und große Mengen von rauhem ER lagen (Abb. 19).
Der Spalt zwischen den einzelnen Lamellen war sehr unterschiedlich breit (33-540 µm) und wurde in der Regel vom Zentrum zur Peripherie hin breiter. Die innerste Lamelle grenzte direkt an das Axon und war mit ihm durch Desmosonen verbunden. Die Spalten selbst enthielten wenige Filamente und Kollagenfasern.

## 3.2 Katecholamin- und Immunhistochemie

### Katecholaminhistochemie

In Schnitten von gefriergetrocknetem Material, das mit Paraformaldehyd begast worden war oder in mit Glyoxylsäure behandelten nativen Cryostatschnitten waren im Mark katecholaminhaltige Zellen und in der Rinde zahlreiche fluoreszierende Zellfortsätze zu erkennen.
Die Zellen im Mark zeigten eine intensive, homogene, gelbe Fluoreszenz, wobei die Kerne ausgespart blieben. Einzelne oder in Gruppen liegende große sympathische Ganglienzellen wiesen eine schwach grüne Fluoreszenz auf.
Im Mark selbst konnten wegen der starken Fluoreszenz der Zellen keine fluoreszierenden Fasern differenziert werden.
Im Cortex (Abb. 21) waren vor allem Blutgefäße in der Zona glomerulosa und Zona reticularis reich mit feinen Faseraufzweigungen versorgt, während in der Zona fasciculata ein solches Netz fehlte und nur gelegentlich dicke Faserbündel den Cortex durchquerten.
Besonders reich an fluoreszierenden Fasern waren die Organkapsel und die Wand der Kapselarteriolen.

### Immunhistochemie

Eine starke Myosin- und weniger starke Aktin-spezifische

Immunfluoreszenz war in Mark und Rinde entlang der Blutgefäße und in der Kapsel zu finden. Dicht unter der Kapsel teilten sich die Kapselarterien auf in Gefäße, die unverzweigt den Cortex durchdrangen und solche, die sich in das corticale Kapillarnetz aufzweigten.
Eine besonders auffällige Myosin-spezifische Fluoreszenz wurde entlang der Blutgefäße der Zona glomerulosa und Zona reticularis gefunden (Abb. 22).
Die Fluoreszenz der endokrinen Zellen in Mark und Rinde war nach Inkubation mit Anti-Myosin nicht stärker als in Kontrollen, die mit Antigen-adsorbierten Antikörpern oder mit FITC allein behandelt waren.
Dagegen zeigte sich in den mit Anti-Aktin inkubierten Schnitten in den Markzellen eine dünne fluoreszierende Schicht unter der Zellmembran.
Die Markzellgruppen wurden von dünnen Ausläufern fluoreszierender Zellen umgeben (Abb. 23), die ultramorphologisch sowohl Fibroblasten als auch glatten Muskelzellen glichen.

### 3.3 Biochemie

Aufgrund der Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren neugeborener und adulter Meerschweinchen ergab sich ein starkes Oberwiegen von A. Der Anteil von A an den Gesamtkatecholaminen betrug etwa 90 % (Abb. 25).
In der rechten Nebenniere blieb der relative Anteil von A bei neugeborenen und adulten Tieren gleich, da der absolute Gehalt der Nebennieren an A und NA im gleichen Verhältnis stieg. Der absolute A-Gehalt der linken Nebenniere zeigte einen Zuwachs um das zweifache bei adulten Tieren, während der NA-Gehalt von 1,9 $\pm$ 0,2 (n = 3) auf 0,8 $\pm$ 0,3 µg/NN (n = 5) abnahm. Die Nebennieren neugeborener Meerschweinchen enthielten einen entsprechend niedrigen Prozentsatz an A (71 $\pm$ 6 %, n = 3).
DA machte weniger als 0,5 % des Gesamtkatecholamingehalts aus.

Abb. 21: Mit phosphatgepufferter 2 %iger Glyoxylsäure behandelter Schnitt durch die Nebennierenrinde. Katecholaminhaltige Zellfortsätze stehen vor allem in Beziehung zu Blutgefäßen der Kapsel, Zona glomerulosa und Zona reticularis. x 150

Abb. 22: Immunhistochemischer Nachweis von Myosin in der Nebennierenrinde nach Inkubation mit einem spezifischen Antikörper gegen Myosin aus Hühnermuskelmagen. Man beachte die Übereinstimmung in der Verteilung myosinhaltiger Strukturen mit derjenigen von katecholaminhaltigen Zellfortsätzen. x 150

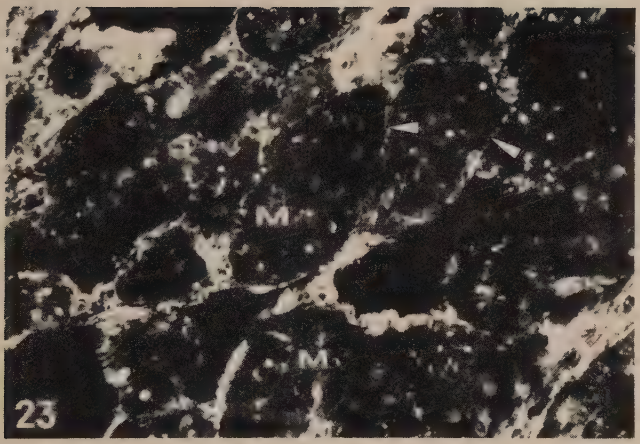



Abb. 23: Immunfluoreszenzmikroskopischer Nachweis von Myosin im NNM. Die Markzellballen (M) sind von zarten Ausläufern glattmuskelähnlicher Zellen (Pfeile) umgeben. x 560

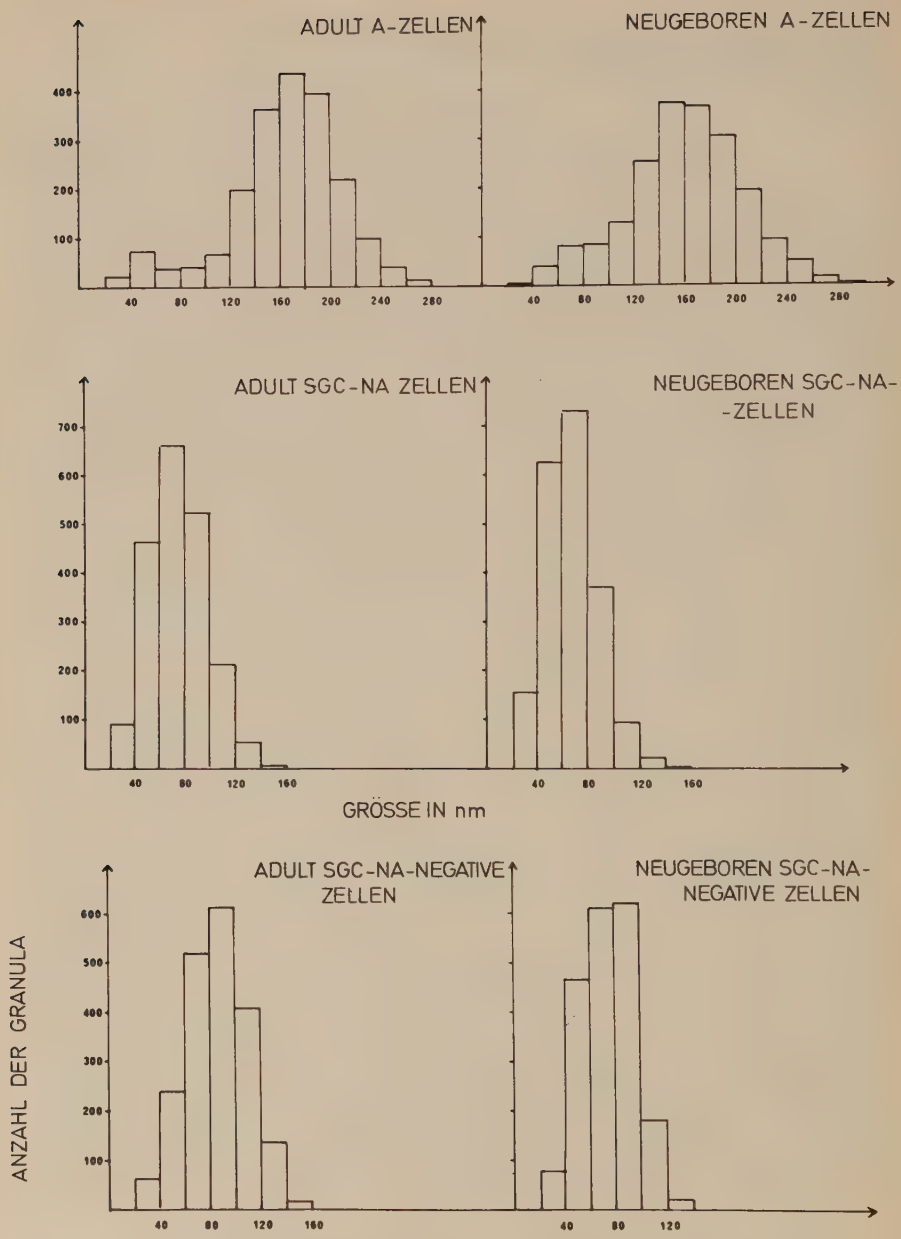



Abb. 24: Histiogramme der Größenverteilung von Granula in "normalen" A-haltigen, SGC-NA positiven und SGC-NA-negativen Zellen im NNM neugeborener und adulter Meerschweinchen.

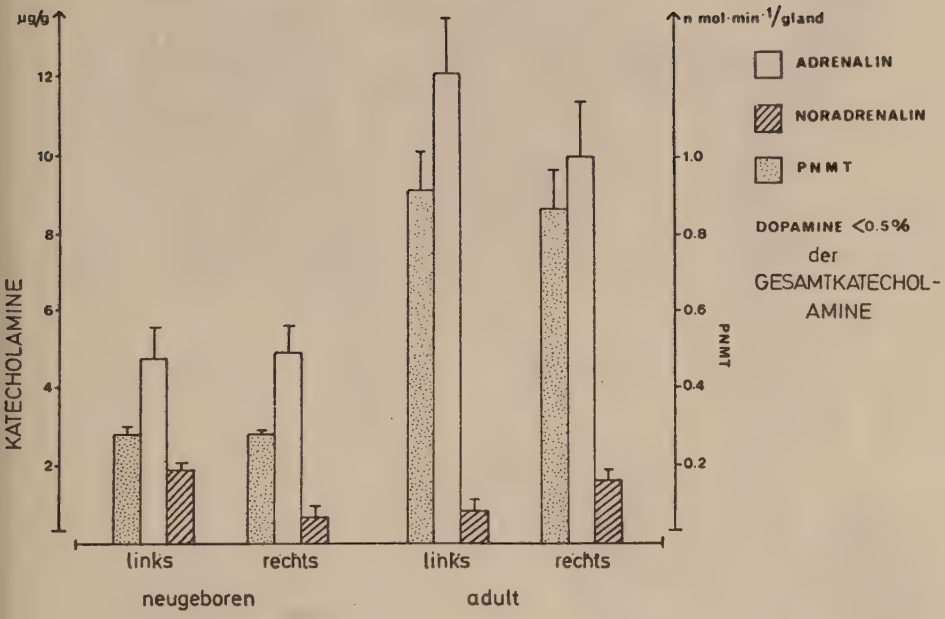



Abb. 25: Katecholamine und Aktivität des Enzyms Phenyläthanolamin N-methyltransferase (PNMT) im Nebennierenmark von neugeborenen und adulten Meerschweinchen.

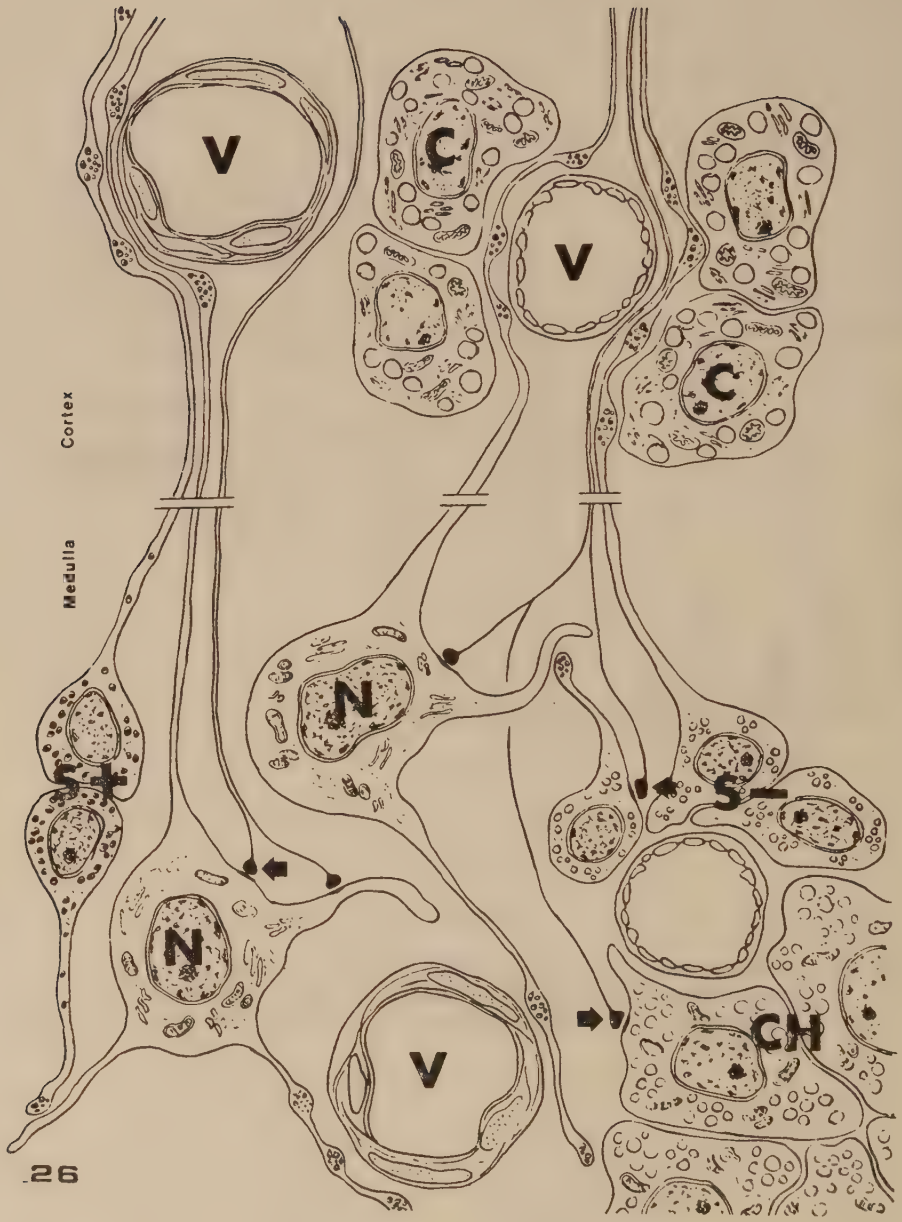



Abb. 26: Halbschematische Darstellung der wichtigsten morphologischen Resultate dieser Arbeit. Neurone des NNM (N), SGC-Zellen (S) und chromaffine A-Zellen (CH) erhalten eine präganglionäre cholinerge Innervation (Pfeile). Zwei Typen von SGC-Zellen können unterschieden werden (NA-positive = S + und NA-negative = S -). Ihre Fortsätze stehen im Kontakt mit Neuronen, Cortexzellen (C) und cortikalen Blutgefäßen (V).

## 4. DISKUSSION

Die in dieser Studie gemachten Beobachtungen zeigen, daß SGC-Zellen im NNM von neugeborenen und adulten Meerschweinchen vorkommen. Die SGC-Zellen unterscheiden sich von den im NNM dominierenden A-Zellen durch kleinere Granulärvesikel, größere Mengen von Polyribosomen, einen geringeren Zelldurchmesser, eine höhere Kern- Zytoplasmarelation und die Fähigkeit, lange Fortsätze zu bilden. Sehr ähnliche Zellen wurden, während diese Arbeit entstand, von Kobayashi und Coupland (1977) und Gorgas und Böck (1976b) im NNM der Maus beschrieben. Hinsichtlich ihrer Ultrastruktur gleichen diese SGC-Zellen denjenigen in sympathischen Ganglien, die ebenfalls kleine Somata (6-12 µm) (Matthews und Raisman, 1969), reichlich freie Ribosomen (Matthews und Raisman, 1969) unterschiedlich lange Fortsätze (Williams, 1967; Williams et al., 1975) und Granula besitzen, die meist kleiner sind als die der chromaffinen Zellen des NNM (Hökfelt, 1969; Matthews und Raisman, 1969; Taxi et al., 1969; Williams und Palay, 1969: Ganglion cervicale superius der Ratte: 60-120 µm; Elfvin, 1968: Ganglion mesentericum inferius Kaninchen: 90-170 µm).

Wie in den sympathischen Ganglien bilden die SGC-Zellen im NNM keine einheitliche Zellpopulation. Die Mehrzahl dieser Zellen besitzt elektronenoptisch sehr dichte Granula und läßt sich mit ammoniakalischer Silbernitratlösung tief schwarz färben: Beide Befunde sprechen für das Vorliegen eines primären Amins, wahrscheinlich NA. In Einklang damit ergeben auch die biochemischen Untersuchungen einen NA-Anteil von 10 % am Gesamtkatecholamingehalt der Nebenniere, der nicht allein in den relativ selten gefundenen "normalen" NA-Zellen gespeichert sein kann.
Hinsichtlich der Dichte und Größe der Kerne entspricht dieser Zelltyp einem von Elfvin et al. (1975) im Ganglion mesentericum des Meerschweinchens beschriebenen SGC-Zelltyp,

dem Typ II von Lu et al. (1976) im Ganglion cervicale superius und Ganglion coeliaco-mesentericum der Ratte und dem Typ II im Ganglion hypgastricum des Meerschweinchens von Watanabe (1971).

Einige SGC-Zellen im NNM vom Meerschweinchen besitzen Granula geringer Elektronendichte und reagieren nicht mit ammoniakalischer Silbernitratlösung, was für A als gespeichertes Katecholamin sprechen könnte. Es wäre aber auch denkbar, daß primäre Amine wie NA oder DA in einer Bindungsform vorliegen, in der sie bei der Glutaraldehyd-Osmiumtetroxyd Fixierung ausgewaschenwerden. Wir halten es für wenig wahrscheinlich, daß DA in einem separaten Zelltyp gespeichert wird, da sein Anteil an dem Gesamt-KA im NNM weniger als 0,5 % beträgt und zudem immer in geringer Menge als Vorstufe der Katecholamine NA und A vorhanden ist.

Funktionelle Bedeutung der SGC-Zellen

Hinsichtlich der funktionellen Bedeutung der SGC-Zellen werden in der Literatur verschiedene Theorien diskutiert:

1) SGC-Zellen als unreife sympathische Zellformen

Es ist bekannt, daß chromaffine Zellen und sympathische Ganglienzellen aus einer gemeinsamen Stammzelle (Coupland, 1965) hervorgehen und das Vorhandensein einer erhöhten Konzentration von Corticosteroiden, wie sie durch den nahen Cortex gegeben ist, für die Differenzierung in chromaffine Zellen von entscheidender Bedeutung ist (Hervonen, 1971; Hervonen und Kanerva, 1973). Während im fetalen NNM innerhalb eines Zellballens gelegene primitive sympathische Zellen sich zu Ganglienzellen differenzieren, sollen sich die einer erhöhten Corticosteroidkonzentration ausgesetzten Zellen am Rand dieser Zellballen zu chromaffinen NNM-Zellen entwickeln (Hervonen, 1971; Hervonen und Kanerva, 1973). In Gewebekulturen (Unsicker und Chamley, 1977; Unsicker et al. 1978b) und in Transplantaten in die vordere Augenkam-

mer (Malmfors und Olson, 1971; Tschechne, B., 1978; Tschechne, D., 1978) bilden chromaffine Zellen Fortsätze und enthalten kleinere Granulärvesikel als in Kontrollen, gleichen also den SGC-Zellen im Nebennierenmark. Das Auswachsen dieser Fortsätze kann in Gewebekulturen verhindert werden durch Zusatz physiologischer Konzentrationen von Corticosteroiden zum Nährmedium (Unsicker et al., 1978b). Corticosteroide beeinflussen die Entwicklung primitiver sympathischer Zellen zu chromaffinen Zellen und verhindern wahrscheinlich auch ihre Dedifferenzierung. SGC-Zellen im NNM könnten also als chromaffine Zellen aufgefaßt werden, die entweder während ihrer Entwicklung nicht von ausreichend hohen Corticosteroidkonzentrationen erreicht wurden oder denen Corticosteroidrezeptoren für die endgültige Ausreifung zu chromaffinen Zellen fehlen. Auch die hohe Kern-Zytoplasmarelation und der relative Ribosomenreichtum spricht für eine Interpretation der SGC-Zelle im NNM im Sinne einer unreifen Zellform.

2) SGC-Zellen als neuronale Elemente

Die Interpretation der SGC-Zellen als nicht vollständig gereifte chromaffine Zellform muß nicht gleichzeitig Funktionslosigkeit bedeuten. SGC-Zellen im NNM weisen morphologisch neuronale Eigenschaften auf: Ihre Fortsätze reichen bis weit in den Cortex, z.T. bis in die Nähe der Nebennierenarteriolen, die sich dicht unter der Nebennierenkapsel aufzweigen (Coupland, 1975). In ihren Varikositäten, die z.T. enge Kontakte zu verschiedenen möglichen Effektorzellen wie glatten Muskelzellen von Gefäßen, Kapillarendothelien oder Cortexzellen, bilden, werden neben den für diesen Zelltyp charakteristischen Granulärvesikeln die für adrenerge Varikositäten typischen Aggregate kleiner (40-60 nm) leerer, gelegentlich mit elektronendichtem Inhalt gefüllter Vesikel gefunden, die in geringerem Ausmaß als die Ganglienzellaxone mit 5-OHDA markierbar sind. SGC-Zellen des NNMs erhalten, wenn auch nur sehr spärlich, cholinerge Synapsen. Einige Autoren (Lu et al., 1976; Elfvin et al., 1975) nehmen an, daß zumindest einige

SGC-Zellen in sympathischen Ganglien, die Blutgefäßen eng benachbart sind, chemorezeptorische Funktion haben. Zellfortsätze der SGC-Zellen bilden efferente Synapsen an Profilen, die wir als Dendriten von Ganglienzellen interpretiert haben, da sie in enger Nachbarschaft zu Ganglienzellen liegen und wir ähnliche Strukturen noch in Verbindung mit den Perikaryen fanden. Diese Synapsen sind charakterisiert durch typische Membranspezialisierungen und Ansammlungen von Granulärvesikeln vor der präsynaptischen Membran und gleichen denen zwischen SGC-Zellen und sympathischen Ganglienzellen, wie sie von Siegrist und Mitarbeitern (1968), Matthews und Raisman (1969), Williams und Palay (1969), Taxi et al. (1969) sowie Yokota (1973) im Ganglion cervicale superius der Ratte beschrieben worden sind. Auf derartige Befunde könnte sich eine Interpretation dieses SGC-Zelltyps im NNM des Meerschweinchens als Interneuron stützen. Außer an Ganglienzellen bilden Varikositäten der SGC-Zellfortsätze auch Kontakte an Cortexzellen, vor allem in der Zona fasciculata und weniger häufig in der Zona reticularis. Ein Kontakt neuronaler Strukturen zu endokrinen Zellen läßt an eine Beeinflussung der Hormonabgabe oder Hormonproduktion denken. In der Tat ergaben physiologische Untersuchungen an Säugern, daß durch den Einfluß von A auf den Cortex die Abgabe von Corticosteroiden um mehrere hundert Prozent gesteigert werden kann (Vogt, 1944), während die Ausschaltung des Markes zu einer deutlichen Retention von Corticosteroiden in der Nebenniere führte (Brudieux und Delost, 1968).

Andererseits ist bekannt, daß Corticosteroide die Aktivität verschiedener, die Katecholaminsynthese katalysierender Enzyme in den chromaffinen NNM-Zellen steigern (Wurtmann und Axelrod, 1966; Wurtmann et al., 1972; Moore und Phillipson, 1975; Ciaranello et al., 1976). Somit wäre es denkbar, daß die SGC-Zellen indirekt die Katecholaminsynthese modulieren, indem sie die Freigabe von Corticosteroiden beeinflussen.

Fortsätze von SGC-Zellen werden wie Varikositäten sympathischer Ganglienzellen im Kontakt mit glatten Muskelzellen der Gefäße und mit Endothelien der Kapillaren bzw. Sinusoide gefunden. Unter Kulturbedingungen verhalten sich chromaffine NNM-Zellen von Säugern wie SGC-Zellen in vivo (Unsicker und Chamley, 1977). Ihre Fortsätze, die sie spontan oder unter Einwirkung von Nerve Growth Factor bilden (Unsicker und Chamley, 1977; Unsicker et al., 1978b), stellen ebenso wie sympathische Ganglienzellen in vivo (Chamley et al., 1973a und b) enge Kontakte mit glatten Muskelzellen her (Unsicker, persönliche Mitteilung).

Ganglienzellen wurden im NNM von Säugern von verschiedenen Autoren beschrieben (Unsicker, 1967; Diner, 1968; Hervonen, 1971). Zwei verschiedene Typen kommen im NNM des Meerschweinchens vor.

Die kleinen Ganglienzellen (Typ II) bilden eine uneinheitliche Gruppe, die gleichermaßen über Eigenschaften von Ganglienzellen wie auch von SGC-Zellen verfügt. Ähnliche Zellen wurden auch in der Nebenniere von Vögeln und Reptilien (Unsicker, 1973a; 1976) gefunden und als in ihrer Entwicklung retardierte Zellen aufgefaßt.

Die großen Ganglienzellen entsprechen wahrscheinlich den "principal neurons" in sympathischen Ganglien. An ihnen endigen Terminals, die kein 5-OHDA in ihre Vesikel aufnehmen und von 6-OHDA nicht geschädigt werden. Sie können daher als cholinerg aufgefaßt werden (Grillo, 1966; Tranzer und Thoenen, 1967; Chiba, 1973).

Aufgrund ihrer Ultramorphologie können Ganglienzellen nicht eindeutig als cholinerg oder adrenerg bezeichnet werden (Yoshida, 1968). Einige Hinweise sprechen jedoch dafür, daß ein erheblicher Teil der Ganglienzellen im NNM des Meerschweinchens adrenerg ist: An Blutgefäßen in Mark und Rinde werden Axone gefunden, deren Varikositäten Granulärvesikel von 80-120 nm Durchmesser und kleine (40-60 nm) agranuläre und granuläre Vesikel enthalten, die 5-OHDA aufnehmen und von 6-OHDA geschädigt werden und somit als adrenerg gelten können (Tranzer und Thoenen, 1967; 1968; 1968). Da auch in

Transplantaten von NNM unter die Nierenkapsel (Unsicker et al. 1977a) adrenerge Axone gefunden wurden, wird angenommen, daß zumindest ein Teil der adrenergen Axone von Ganglienzellen ausgeht, die im Mark liegen. Funktionell könnten sie an der Regulierung der Nebennierendurchblutung beteiligt sein (s. Seite 44 ).

Wirkung von 5- und 6-OHDA auf SGC-Zellen

Von dem stark zytotoxisch wirkenden 6-OHDA ist bekannt, daß es selektiv von katecholaminergen Neuronen, vor allem von deren Fortsätzen, aufgenommen wird (Kostrzewa und Jacobowitz, 1974; Sachs und Jonsson, 1975). Zur Frage einer Schädigung von chromaffinen Zellen durch 6-OHDA liegen unterschiedliche Beobachtungen vor. Angeletti und Levi-Montalcini (1970), Eränkö (1972) sowie Kanerva und Hervonen (1974), veröffentlichten ultramorphologische Befunde, die auf eine Schädigung der SGC-Zellen in sympathischen Ganglien von adulten, jedoch nicht von neugeborenen Tieren hinweisen. Die unterschiedliche Reaktion bei neugeborenen und adulten Tieren wurde von diesen Autoren auf eine unterschiedlich ausgeprägte schützende Schwannzellhülle zurückgeführt. Andererseits konnte Hess (1976) bei Untersuchungen am Glomus caroticum der Ratte, trotz Aufnahme von 6-OHDA in die Speichervesikel, keine Schädigung der chromaffinen Zellen feststellen.
Weder die SGC-Zellen noch die Ganglienzellen im NNM des Meerschweinchens besitzen eine lückenlose Schwannzellhülle, die eine Aufnahme von 6-OHDA verhindern könnte. Demnach muß das Ausbleiben von cytologischen Veränderungen in den SGC-Zellen des Nebennierenmarkes andere Gründe haben.
Zu diskutieren wäre, ob diese Zellen entweder keinen ausreichenden Uptake-Mechanismus besitzen, oder 6-OHDA auf einem bisher unbekannten Weg metabolisieren können.
Da die SGC-Zell-Fortsätze nach Applikation von 5-OHDA eine deutliche Aufnahme in die kleinen Speichervesikel zeigen und zudem die großen Speichervesikel verändert erscheinen im Sinne einer Aufhellung des "core"-Zentrums,

ist das Vorliegen eines hochspezifischen Amin-Aufnahmemechanismus wahrscheinlich.

Die Lamellenkörperchen in der Nebenniere des Meerschweinchens gleichen den von Halata (1975) beschriebenen Pacinikörperchen, doch fehlt eine den Rezeptor umgebende Kapsel und eine ausgeprägte Perineuralscheide um die in der Nähe der Körperchen gefundenen myelinisierten Nerven.
Lamellenkörperchen vom Typ des Pacinikörperchen sind außer in der Haut und im Bewegungsapparat (Halata, 1975; Poláček, 1961) in inneren Organen verschiedener Säuger, wie Mesenterium (Pease und Quilliam, 1957), Pankreas, Adventitia von Arterien und Venen, Blase, Prostata und in der Lamina propria seröser Häute bekannt (Shehata, 1970; 1972).
Von Physiologen (Quilliam und Armstrong, 1963; Munger, 1971; Schmidt, 1971) wurde dieser Typ einer Nervenendigung als Rezeptor für Vibrationsimpulse klassifiziert, während kleinere Pacinirezeptoren für Beschleunigungsdetektoren gehalten werden (Schmidt, 1971). Von afferenten Nervenfasern aus der Nebenniere von Katze und Kaninchen konnten Niijima und Winter (1968) pulssynchrone Entladungen, ähnlich denen des Carotissinus, ableiten. Aufgrund ihrer Befunde vermuteten die Autoren Pressorezeptoren in der Nebenniere, die das afferente Glied in einem Regelsystem sein könnten, der für die Kontrolle des regionalen Blutflusses sorgt.
Die in der Nebenniere gefundenen Lamellenkörperchen könnten u.E. das morphologische Korrelat der von den Physiologen geforderten Pressorezeptoren in der Nebenniere sein; sie sind jedoch bei anderen Säugern bisher noch nicht gefunden worden.

Fluoreszenzhistochemie

Mit Hilfe der Katecholamin-induzierten Fluoreszenz können adrenerge Nervenfasern vor allem in der Zona glomerulosa und Zona reticularis nachgewiesen werden.
Die Aktin- und Myosin-spezifische Fluoreszenz zeigt das-

selbe Verteilungsmuster. Dabei weisen muskelstarke Gefäße eine brilliante, Kapillaren und Sinusoide eine schwächere Fluoreszenz auf.
Aufgrund dieser Befunde kann vermutet werden, daß eine Regulierung der Durchblutung der Nebenniere nicht nur in den Hauptgefäßstämmen (Coupland 1975) sondern auch auf der Ebene der Kapillaren und Sinusoide stattfindet. Die ausgeprägte Versorgung von Gefäßen der Zona reticularis durch adrenerge Nerven könnte bedeuten, daß hier durch intrinsische Nerven aus dem NNM der Einstrom von Corticosteroiden reguliert werden kann. Dieser Befund ist von besonderem Interesse, da Glucocorticoide eine Induktion von Enzymen der Katecholaminsynthese bewirken (Wurtman und Axelrod, 1966; Wurtman et al., 1972; Ciaranello et al., 1976).

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Das Nebennierenmark (NNM) von neugeborenen und adulten Meerschweinchen wurde elektronenoptisch, histo- und biochemisch, unter besonderer Berücksichtigung der kleingranulären (SGC) Zellen, untersucht. Adrenalin (A) war das dominierende Katecholamin (KA) (70 - 90 % der Gesamt-KA). Der A-Gehalt des NNMs war bei neugeborenen Meerschweinchen etwas geringer als bei adulten Tieren. Analog zu den biochemischen Befunden ergaben die elektronenmikroskopischen Untersuchungen ein starkes Überwiegen von A-speichernden Zellen mit großen Granulärvesikeln (durchschnittlicher Durchmesser 180 nm). Noradrenalin (NA)-Zellen mit großen Granulärvesikeln (durchschnittlicher Durchmesser 170 nm) waren extrem selten. Die meisten NA-speichernden Zellen besaßen wesentlich kleinere Granulärvesikel (durchschnittlicher Durchmesser 80 nm) und eine höhere Kern-Zytoplasma-Relation. Diese Zellen wurden als SGC-NA-Zellen bezeichnet. Ein weiterer SGC-Zelltyp enthielt Vesikel mit "cores" von schwacher bis mittlerer Elektronendichte (SGC-NA-negative Zellen). Die biochemischen Untersuchungen machten es unwahrscheinlich, daß diese Zellen Dopamin (DA) enthielten. Beide SGC-Zelltypen waren nur sehr spärlich cholinerg innerviert, besaßen aber axonähnliche lange Fortsätze, die in Faserbündeln, gemeinsam mit cholinergen und adrenergen Axonen, in Mark und Rinde zu finden waren. Die Varikositäten dieser Fortsätze standen in engem Kontakt zu Blutgefäßen, einschließlich Kapillaren, endokrinen Cortexzellen und zu Fortsätzen, die wir als Dendriten von medullären Nervenzellen interpretieren.

Zwei Typen von Nervenzellen wurden im NNM des Meerschweinchens gefunden, von denen Typ I den "principal neurons" in sympathischen Ganglien glich, Typ II eine Zwischenform zwischen SGC- und Ganglienzellen darstellte. Zahlreiche, mit 5-OHDA markierbare und daher für adrenerg gehaltene

Axonvarikositäten an Gefäßen in Mark und Rinde können wahrscheinlich den Typ I Ganglienzellen zugeordnet werden.

Pacinikörperchen-ähnliche Rezeptoren wurden in den Nebennieren von Meerschweinchen an der Mark-Rindengrenze in der Nachbarschaft von venösen Gefäßen gefunden. Wir halten diese Rezeptoren für den Anfang des afferenten Schenkels eines den regionalen Blutfluß kontrollierenden Regelsystems.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

ANGELETTI, P.U., LEVI-MONTALCINI, R.:
Sympathetic nerve cell destruction in newborn mammals by 6-OHDA.
Proc. nat. Acad. Sci 65, 114-121 (1970)

AXELROD, J.:
Purification and properties of phenylethanolamine N-methyltransferase.
J. biol. Chem. 237, 1657-1660 (1962)

BÄNDER, A.: Über zwei verschiedene chromaffine Zelltypen im Nebennierenmark und ihre Beziehung zum Adrenalin- und Arterenolgehalt.
Verh. Anat. Ges. 48, 172-176 (1950)

BJÖRKLUND, A., CEGRELL, C., FALK, B., RITZÉN, M., ROSENGREN, E.: Dopamine-containing cells in sympathetic ganglia.
Acta physiol. scand. 78, 334-338 (1970)

BJÖRKLUND, A., FALK, B., OWMAN, CH.:
Fluorescence microscopic and microspectrofluorimetric techniques for the cellular localization and characterisation of biogenic amines.
In: The Thyroid and Biogenic Amines (J.E. Rall and I.J. Kopin,eds.) Vol. I,318-368.North Holland Publishers, Amsterdam (1972)

BRUDIEUX, R., DELOST, P.:
Sécrétion des corticosteroids après autogreffe surrénalienne chez le rat.
J. Physiol. (Paris) 60, Suppl. 2, 411 (1968)

CHAMLEY, J.H., GOLLER, I., BURNSTOCK, G.:
Selective growth of sympathetic nerve fibres to explants of normaly densly innervated autonomic effector organs in tissue culture.
Develop. Biol. 31, 362-379 (1973a)

CHAMLEY, J.H., CAMPBELL, G.R., BURNSTOCK, G.:
An analysis of the interactions between sympathetic nerve fibres and smooth muscle cells in tissue culture.
Develop. Biol. 33, 344-361 (1973b)

CHIBA, T.: Electron microscopic and histochemical studies on the synaptic vesicles in mouse vas deferens and atrium after 5-hydroxydopamine administration.
Anat. Rec. 175, 35-48 (1973)

CIARANELLO, R.D., WOOTEN, G.F., AXELROD, J.:
Regulation of rat adrenal dopamine-ß-hydroxylase. II. Receptorinteraction in the regulation of enzyme synthesis and degradation.
Brain Res. 113, 349-362 (1976)

COUPLAND, R.E.:
The natural history of the chromaffin cell.
London, Longmans (1965)

COUPLAND, R.E.:
Observations on the form and size distribution of chromaffin granules and on the identity of adrenaline- and noradrenaline-storing chromaffin cells in vertebrates and man.
Mem. Soc. Endocr. 19, 611-655 (1971)

COUPLAND, R.E.:
The chromaffin system. In: Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. XXXIII, Catecholamines (H. Blaschko and E. Muscholl, eds.), pp.16-45. Berlin Heidelberg New York: Springer (1972)

COUPLAND, R.E.:
Blood supply of the adrenal gland. In: Handbook of Physiology, Section 7, Vol. VI, pp 283-294 American Physiological Society, Washington, D.C. (1975)

COUPLAND, R.E., HOPWOOD, D.:
The mechanism of the differential staining reaction for adrenaline- and noradrenaline-storing granules in tissues fixed in glutaraldehyde. J. Anat. (Lond.) 100, 227-243 (1966)

DAIL, W.G., EVAN, A.P., EASON, H.R.:
The major ganglion in the pelvic plexus of the male rat. A histochemical and ultrastructural study.
Cell Tiss. Res. 159, 49-62 (1975)

DINER, O.: Présence d'amas de vésicules de type synaptique du niveau des péricaryons des cellules nerveuses de la médullosurrénale du Hamster.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 266, 2441-2443 (1968)

ELFVIN, L.G.:
A new granule containing nerve cell in the inferior mesenteric ganglion of the rabbit.
J. Ultrastruct. Res. 22, 37-44 (1968)

ELFVIN, L.G., HÖKFELT, T., GOLDSTEIN, M.:
Fluorescence microscopical, immunhistochemical and ultrastructural studies on sympathetic ganglia of the guinea-pig, with special reference to the SIF-cells and their catecholamine content.
J. Ultrastruct. Res. 51, 377-396 (1975)

ERÄNKÖ, O.:Distribution of fluorescing islets, adrenaline and noradrenaline in the adrenal medulla of the hamster.
Acta endocrinol. (Kbh.) 18, 18o-188 (1955)

ERÄNKÖ, O., HÄRKONEN, M.:
Histochemical demonstration of fluorogenic amines in the cytoplasm of sympathetic ganglion cells of the rat.
Acta physiol. scand. 58, 285-286 (1963)

ERÄNKÖ, L., ERÄNKÖ, O.:
Effect of 6-OHDA on the ganglion cells and the SGC-cells in the superior cervical ganglion of the rat.
Acta physiol. scand. 84, 115-124 (1972)

FALK, B., HILLARP, N.-Å., THIEME, G., TORP, A.:
Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde.
J. Histochem. Cytochem. 10, 348-354 (1962)

FILLENZ, M.:
Fine structure of noradrenaline storage vesicles in nerve terminals of the rat vas deferens.
Phil. Trans. Roy. Soc. B 261, 319-323 (1971)

GORGAS, K.: Über Fibrillärstrukturen im Nebennierenmark von Haus- und Wildmeerschwein.
Z. Zellforsch. 87, 377-388 (1968)

GORGAS, K., BÜCK, P.:
Identification of chromaffin and enterochromaffin cells in semithin sections by means of the argentaffin reaction.
Mikroskopie 32, 57-63 (1976a)

GORGAS, K., BÜCK, P.:
Morphology and histochemistry of the adrenal medulla I. Various types of primary catecholamine-storing cells in the mouse adrenal medulla.
Histochemistry 50, 17-31 (1976b)

GRAY, E.G., GUILLERY, R.W.:
Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system.
Int. Rev. Cytol. 19, 111-182 (1966)

GRILLO, M.A.:
Electron microscopy of sympathetic tissues.
Pharmacol. Rev. 18, 387-399 (1966)

GRILLO, M.A., JACOBS, L., CONROE, J.H.Jr.:
A combined fluorescence histochemical and electron microscopic method for studying special monoamine-containing cells (S.I.F. cells).
J. Comp. Neurol. 153, 1-14 (1974)

GRÖSCHEL-STEWART, U., SCHREIBER, J., MAHLMEISTER, C., WEBER, C.: Production of specific antibodies to contractile proteins, and their use in immunofluorescence microscopy. I. Antibodies to smooth and striated chicken myosins.
Histochemistry 46, 229-236 (1976)

GRÖSCHEL-STEWART, U., CEURREMANS, S., LEHR, I., MAHLMEISTER, C., PAAR, E.:
Production of specific antibodies to contractile proteins, and their use in immunofluorescence microscopy. II. Speciesspecific and speciesnon-specific antibodies to smooth and striated chicken muscle actin.
Histochemistry 50, 271-279 (1977)

GRYNSZPAN-WINOGRAD, O.:
Ultrastructure of the chromaffin cell.
In: Handbook of Physiology, Section 7, Vol. VI, Adrenal Gland, pp. 295-308.American Physiological Society, Washington D.C., 1975

HALATA, Z.:The mechanoreceptors of the mammalian skin, ultrastructure and morphological classification.
Ergebn. Anat. EntwGesch. 50, 5 (1975)

HERVONEN, A.:
On the innervation and differentiation of human fetal chromaffin tissue.
Progr. Brain Res. 34, 445-454 (1971)

HERVONEN, A., KANERVA, L.:
Neural differentiation in human fetal adrenal medulla.
Intern. J. Neuroscience 5, 43-46 (1973)

HESS, A.: The effects of 6-OHDA on the appearence of granulated vesicles in glomus cells of the rat carotid body.
Tiss. Cell 8, 381-387 (1976)

HEYM, CH.: Ganglion cells and paraganglionic cells in the developing superior cervical ganglion of normal and p-chlorophenylalanine treated rats.
Cell Tiss. Res. 163, 249-262 (1975)

HEYM, CH.: Monoamine storage sites in the rat superior cervical ganglion following synthesis inhibition.
Cell Tiss. Res. 165, 239-248 (1976)

HEYM, CH., GRUBE, D.:
Effects of guanethidine on paraganglionic cells in the superior cervical ganglion of the rat.
Anat. Embryol. 148, 89-97 (1975)

HÖKFELT, T.:
Distribution of noradrenaline storing particles in peripheric adrenergic neurons as revealed by electron microscopy.
Acta physiol. scand. 76, 427-440 (1969)

JACOBOWITZ, D.:
Catecholamine fluorescence studies of adrenergic neurons and chromaffin cells in sympathetic ganglia.
Fed. Proc. 29, 1929-1944 (1970)

KANERVA, L., HERVONEN, A.:
Fine structural changes caused by 6-OHDA in the small intensely fluorescent cells of the paracervical ganglion of the rat.
Cell Tiss. Res. 152, 437-447 (1974)

KEBABIAN, J.W., GREENGARD, P.:
Dopamine-sensitive adenylcyclase:
possible role in synaptic transmission.
Science 174, 1346 (1971)

KOBAYASHI, S., COUPLAND, R.E.:
Two populations of microvesicles in the SGC (small granule chromaffin) cells of the mouse adrenal medulla.
Arch. histol. jap. 40, 251-259 (1977)

KOSTRZEWA, R.M., JACOBOWITZ, D.M.:
Pharmacological actions of 6-hydroseydopamine.
Pharmacol. Rev. 26, 99-288 (1974)

LIBET, B., OWMAN, CH.:
Concomitant changes in formaldehyde-induced fluorescence of dopamine interneurons and in slow inhibitory postsynaptic potentials of the rabbit superior cervical ganglion, induced by stimulation of the preganglionic nerve or by a muscarinic agent.
J. Physiol. (Lond.) 237, 635-662 (1974)

LIBET, B., TOSAKA, T.:
Dopamine as a sympathetic transmitter and modulator in sympathetic ganglia: A different mode of synaptic action.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 67, 667-673 (1970)

LINDVALL, O., BJÖRKLUND, A.:
The glyoxylic acid fluorescence histochemical method: A detail ed account of the methology for the visualisation of central catecholamine neurons.
Histochemistry 39, 97-127 (1974)

LU, K.-S., LEVER, J.D., SANTER, R.M., PRESLEY, R.:
Small granulated cell types in rat superior cervical and coeliac-mesenteric ganglia.
Cell Tiss. Res. 172, 331-343 (1976)

MATTHEWS, M.R., RAISMAN, G.:
The ultrastructure and somatic efferent synapses of small granule-containing cells in the superior cervical ganglion.
J. Anat. (Lond.) 105, 255-282 (1969)

MOORE, K.E., PHILLIPSON, O.T.:
Effects of dexamethasone on PNMT and adrenaline in the brains and superior cervical ganglion of adult and neonatal rats.
J. Neurochemistry 25, 289-294 (1975)

MUNGER, B.L.:
Patterns of organisation of periphery sensory receptors. In: Principles of Receptor Physiology, 523-556, W. Loewenstein, ed. Berlin - Heidelberg - New York: Springer(1971)

NIIJIMA, A., WINTER, D.L.:
Baroreceptors in the adrenal gland.
Science 159, 434-435 (1968)

OLSON, L., MALMFORS, T.:
Growth characteristics of adrenergic nerves in the adult rat.
Acta physiol. scand. Suppl. 348, 1-112 (1970)

PEASE, D.C., QUILLIAM, T.A.:
Electron microscopy of the pacinian corpuscle.
J. biophys. biochem. Cytol. 3, 331-342 (1957)

POLÁCEK, P.:
Differences in the structure and variability of encapsulated nerve endings in the joint of some species of some mammals.
Acta anat. (Basel) 47, 112-124 (1961)

QUILLIAM, T.R., ARMSTRONG, J.:
Mechanorezeptoren.
Endeavour 12, 55-60 (1963)

SACHS, CH., JONSSON, G.:
Mechanism of action of 6-hydroxydopamine.
Biochem. Pharmacol. 24, 1-8 (1975)

SANTER, R.M., LU, K.-S., LEVER, J.D., PRESLEY, R.:
A study of the distribution of chromaffin-positive (CH+) and small intensely fluorescent (SIF) cells in sympathetic ganglia of the rat at various ages.
J. Anat. (Lond.) 119, 589-599 (1975)

SCHMIDT, R.F.:
Möglichkeiten und Grenzen der Hautsinne.
Klin. Wochenschr. 49, 530 (1971)

SHEHATA, R.:
Pacinian corpuscles in bladder wall and outside ureter of the cat.
Acta anat. 77, 139-143 (1970)

SHEHATA, R.:
Pacinian corpuscles in pelvic urogenital organs and outside abdominal lymph glands of the cat.
Acta anat. 83, 127-138 (1972)

SIEGRIST, G., DOLIVO, M., DUNANT, Y., FOROGLOU-KERANNENS, C., RIBAUPIERRE, F. DE, ROUILLER, CH.:
Ultrastructure and junction of the chromaffin cells in the superior cervical ganglion of the rat.
J. Ultrastruc. Res. 25, 381-407 (1968)

SINGH, J.: A modification of the Masson-Hamperl method for staining of argentaffin cells. Anat. Anz. 115, 81-82 (1964)

TAXI, J., GANTRON, J., L'HERMITE, P.: Donnê ultrastructurale sur une eventuelle modulation adrenergique de l'activitê du ganglion cervical superieur du rat. C.R. Acad. Sci., Paris 269, 1281-1284 (1969)

THOENEN, H.: Surgical, immunological and chemical sympathectomy. Their application in the investigation of the physiology and pharmacology of the sympathetic nervous system. In: Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. XXXIII, Catecholamines (H. Blaschko and E. Muscholl, eds.), pp. 813-844, Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1972)

TORRE, J.C. DE LA, SURGEON, J.W.: A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescense using a modified glyoxylic acid technique. The SPG method. Histochemistry 49, 81-93 (1976)

TRANZER, J.P., THOENEN, H.: Ultramorphologische Veränderungen der synaptischen Nervenendigungen der Katze nach Vorbehandlung mit 5- und 6-Hydroxy-Dopamin. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 343-344 (1967)

TRANZER, J.P., THOENEN, H.: An electron microscopic study of selective, acute degeneration of sympathetic nerve terminals after administration of 6-OHDA. Experientia 24, 155-156 (1968a)

TRANZER, T.P., THOENEN, H.:
Various types of amine-storing vesicles in peripheral adrenergic nerve terminals.
Experientia 24, 484-486 (1968b)

TSCHECHNE, B.:
Ultramorphologische, histo- und biochemische Untersuchungen zur Differenzierung adrenaler chromaffiner Zellen des Meerschweinchens in Transplantaten in die vordere Augenkammer und in der Gewebekultur.
Inaugural-Dissertation, Marburg, 1978

TSCHECHNE, D.:
Neuronale Transformation und Reinnervation von adrenalen chromaffinen Zellen in Transplantaten in der vorderen Augenkammer des Meerschweinchens.
Inaugural-Dissertation, Marburg, 1978

UNSICKER, K.:
Über die Ganglienzellen im Nebennierenmark des Goldhamsters (Mesocricetus auratus). Ein Beitrag zur Frage der peripheren Neurosekretion.
Z. Zellforsch. 76, 187-219 (1967)

UNSICKER, K.:
Fine structure and innervation of the avian adrenal gland. I. Fine structure of adrenal chromaffin cells and ganglion cells.
Z. Zellforsch. 145, 389-416 (1973)

UNSICKER, K.:
Chromaffin, small granule-containing and ganglion cells in the adrenal gland of reptiles.
Cell Tiss. Res. 165, 477-508 (1976)

UNSICKER, K., CHAMLEY, J.H.:
Growth characteristics of postnatal rat adrenal medulla in culture.
Cell Tiss. Res. 177, 247-268 (1977)

UNSICKER, K., ZWARG, U., HABURA, O.:
Electron microscopic evidence for the formation of synapses and synaptoid contacts in adrenal medullary grafts.
Brain Res. 120, 533-539 (1977a)

UNSICKER, K., POLONIUS, T., LINDMAR, R., LÖFFELHOLZ, K., WOLF, U.: Catecholamines and 5-hydroxytryptamine in corpuscles of Stannius of the Salmonid Salmo irideus L. A study correlating electron microscopical, histochemical and chemical findings.
Gen. Comparative Endocrinol. 31, 121-132 (1977b)

UNSICKER, K., GRÜSCHEL-STEWART, U.:
Distribution of contractile proteins and adrenergic nerves in the adrenal gland of guinea-pig, rat and ox as revealed by immunofluorescence and the glyoxylic acid technique.
Experientia 34, 102 (1978)

UNSICKER, K., FLOH, O., ZWARG, U., TSCHECHNE, B., TSCHECHNE, D.: Interactions between autonomic nerves and adrenal chromaffin cells in culture and in vivo transplant systems. In: Peripheral neuroendocrine interaction, R.E. Coupland, W.G. Forssmann, eds. pp. 60-69, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, (1978a)

UNSICKER, K., KRISCH, B., OTTEN, U., THOENEN, H.:
Nerve growth factor-induced fiber outgrowth from isolated rat adrenal chromaffin cells: Impairment by glucocorticoids.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 75, 3498-3502 (1978b)

VOGT, M.: Observations on some conditions affecting the rate of hormone output by the suprarenal cortex.
J. Physiol. 103, 317-332 (1944)

WATANABE, H.:
Adrenergic nerve elements in the hypogastric ganglion of the guinea-pig.
Amer. J. Anat. 130, 305-330 (1971)

WETZSTEIN, R.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nebennierenmark von Maus, Meerschweinchen und Katze.
Z. Zellforsch. 46, 517-576 (1957)

WILLIAMS, T.H.W.:
Electron microscopic evidence for an autonomic interneuron.
Nature 214, 309-310 (1967)

WILLIAMS, T.H.W., PALEY, S.L.:
Ultrastructure of the small neurons in the superior cervical ganglion.
Brain Res. 15, 17-34 (1969)

WILLIAMS, T.H.W., BLACK, A.C.Jr., CHIBA, T., BHALLA, R.C.:
Morphology and biochemistry of small intensely fluorescent cells of sympathetic ganglia.
Nature 256, 315-317 (1975)

WURTMAN, R.J., AXELROD, J.:
Control of enzymatic synthesis of adrenaline in the adrenal medulla by adrenal cortical steroids.
Biol. Chemistry 241, 2301-2305 (1966)

WURTMAN, R.J., POHORECKY, L.A., BALIGA, B.S.:
Adrenocortical control of the biosynthesis of epinephrine and proteins in the adrenal medulla.
Pharmacol. Rev. 24, 411-426 (1972)

YOKOTA, R.:The granule containing cell somata in the superior cervical ganglion of the rat, as studied by a serial sampling method for electron microscopy.
Z. Zellforsch. 141, 331-345 (1973)

YOSHIDA, M.L.:
Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen an sympathischen und parasympathischen Ganglien des Goldhamsters.
Z. Zellforsch. 88, 138-144 (1968)

Zur Beachtung bei den Vergrößerungsmaßstäben der Abbildungen:
Bei der Drucklegung sind alle Photographien um 30 % verkleinert worden.

LEBENSLAUF

Am 6. 7. 1949 wurde ich als Tochter des Brückenbauingenieurs Hans Hermann Habura und seiner Ehefrau Wilhelma Habura, geb. Liebeton, in Griethausen, Kreis Kleve, geboren, und röm. kath. getauft.

Nach dem Besuch der kath. Volksschule Dönberg von 1956 - 1960 legte ich am neusprachlichen Anna-Gymnasium in Wuppertal 1968 die Reifeprüfung ab.

Nach zweijähriger Ausbildung bestand ich 1970 in Düsseldorf das pharmazeutische Vorexamen und arbeitete anschließend bis März 1972 als Vorexaminierte in einer Apotheke.

Im April 1972 begann ich das Studium der Medizin an der Christian-Albrechts-Universität Kiel, wo ich 1974 die ärztliche Vorprüfung, 1975 den ersten Teil der ärztlichen Prüfung, 1977 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung und 1978 den dritten Teil der ärztlichen Prüfung ablegte. Im Oktober 1978 erhielt ich die Approbation als Ärztin.

Seit September 1977 bin ich mit dem Dipl. Geophysiker Ernst Rudolf Flüh verheiratet.

Seit November 1978 arbeite ich als Assistenzärztin in der gynäkologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Bad Segeberg.

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1975/76 im Anatomischen Institut der Christian-Albrechts Universität Kiel und 1979 am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Philipps-Universität Marburg. Herrn Prof. Dr. H. Leonhardt und Herrn Prof. Dr. K. Unsicker danke ich für die Oberlassung von Arbeitsplätzen an den Anatomischen Instituten Kiel und Marburg. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Unsicker für die Oberlassung des Themas, seine freundliche Anleitung, sowie vielfältige Unterstützung und Kritik bei der Durchführung dieser Arbeit.

Gedankt sei auch Herrn Prof. Dr. K. Löffelholz, Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, für die Durchführung der quantitativen Katecholamin- und Enzymbestimmungen. Den Mitarbeitern der Anatomischen Institute Kiel und Marburg danke ich für die vielen kleinen Hinweise und Anregungen, die die Arbeit erleichtern halfen. Frau Waluk und Frau Riettiens möchte ich für ihre bereitwillige Hilfe bei der Anfertigung der Abbildungen danken.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Anatomie: Leonhardt, Bargmann, von Kügelgen, Unsicker, Braak.
Psychologie: Schmidt, Weiss, Malyusz
Biochemie: Krisch, Havsteen, Klink
Innere Medizin: Bernsmeier, Hartmann, Bruhn, Schlaak, Weisbecker, Schaefer, Niedermayer
Dermatologie: Christophers, Paetzold
Pädiatrie: Wiedmann, Bartels, Simon, Heintzen, Doose
Chirurgie: Löhr, Zierott, Havemann, Sattler, Bernhard
Urologie: Wand
Frauenheilkunde: Semm, Dittmar, Philipp
Hals- Nasen und Ohrenkrankheiten: Caliebe, Keck
Ophtalmologie: Böke, Thiel
Neurochirurgie: Jensen
Nervenheilkunde: Soyka, Löwnau, Völkel, Hauss
Anesthesiologie: Wawersik
Medizinische Statistik und Dokumentation: Griesser
Hygiene und Mikrobiologie: Gärtner, Müller-Ruchholtz, Gundermann, Sonntag
Pathologie: Lennert, Stutte, Müller-Hermeling, Harms
Pharmakologie: Lüllmann, Ziegler, Peters, Wassermann
Rechtsmedizin: Steigleder, Grüner